

Aus dem Bereich Hygiene und Technologie der
Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Universität München
— Tierärztliche Fakultät —
Vorstände: Prof. Dr. Dr. h. c. Ludwig Kotter und
Prof. Dr. Gerhard Terplan

**Zur Spezifität des Hemmstoffnachweises
im Harn von Schlachttieren**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gerhard Barthel
aus
Augsburg

München 1974

Druck- und Verlagsanstalt

Werner Blasaditsch · 89 Augsburg · Theodor-Heuß-Platz 3 · Telefon (0821) 51 85 63

Printed in Germany

Aus dem Bereich Hygiene und Technologie der Lebensmittel
tierischen Ursprungs der Universität München
- Tierärztliche Fakultät -

Vorstände: Prof. Dr. Dr. h.c. Ludwig Kotter und
Prof. Dr. Gerhard Terplan

ZUR SPEZIFITÄT DES HEMMSTOFFNACHWEISES IM HARN

VON SCHLACHTTIEREN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität

München

von

Gerhard Barthel

aus

Augsburg

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. G. Terplan
Korreferent: Prof. Dr. B. Gedek

Tag der Promotion: 26. Juli 1974



I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. Einleitung	3
2. Schrifttum	4
2.1. Vorkommen von Hemmstoffen in Fleisch und Organen von Schlachttieren im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung und bei Normalschlachtungen	4
2.2. Nachweis von Hemmstoffen im Harn	12
2.3. Pharmakokinetik von Antibiotika	16
2.4. Vorkommen unspezifischer Hemmstoffe	19
2.4.1. Körpereigene Hemmstoffe	19
2.4.2. Exogene Hemmstoffe	22
2.4.2.1. Pflanzlicher Herkunft	22
2.4.2.2. Sonstiger Herkunft	26
2.5. Empfindlichkeit der Testkeime <i>B. subtilis</i> und <i>B. stearothermophilus</i> gegenüber Hemmstoffen	27
3. Eigene Untersuchungen	33
3.1. Material	33
3.2. Methode	34
3.2.1. <i>B. subtilis</i> BGA	34
3.2.2. <i>B. stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> mit semipermeabler Membran	35
3.3. Ergebnisse	38
3.3.1. Tiermaterial mit unbekannter Vorgeschichte	38
3.3.2. Tiermaterial mit bekannter Vorgeschichte	45
3.3.3. Untersuchung der Harnproben mit Zusatz von Eisen-II-Ionen	51
3.3.4. Vergleich zwischen den eigenen Untersuchungen mit <i>B. stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i> und denjenigen eines Ringversuches mit <i>B. subtilis</i>	59
4. Diskussion	63
5. Zusammenfassung	70
6. Schrifttumverzeichnis	74

Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Rückstände im Fleisch von Schlachttieren, die mit den üblichen Verfahren nachgewiesen werden können, müssen als Rückstände nach Behandlungsmaßnahmen oder nach mißbräuchlicher Verfütterung dieser Stoffe zu nutritiven Zwecken angesehen werden. Nach der Verordnung zur Änderung der Ausführungsbestimmungen A über die Untersuchung und gesundheitspolizeiliche Behandlung der Schlachttiere und des Fleisches bei Schlachtungen im Inland - AB.A - vom 18.12.1973 müssen alle der bakteriologischen Fleischuntersuchung unterliegenden geschlachteten Tiere und stichprobenweise auch Tiere aus Normalschlachtungen einem Untersuchungsverfahren auf Hemmstoffe unterzogen werden. Bei dieser Untersuchung werden eine Muskel- und eine Nierenprobe mittels *Bacillus subtilis* auf Hemmstoffe geprüft. Da sich insbesondere bei den Normalschlachtungen durch eine relativ lange Untersuchungsdauer eine wirtschaftliche Benachteiligung der Tierbesitzer ergibt, wäre es zweckmäßiger, Verfahren anzuwenden, die nach kürzerer Zeit Ergebnisse ermöglichen. Das könnte einmal durch Probenentnahme am lebenden Tier und zum anderen durch Anwendung eines schnelleren mikrobiologischen Verfahrens erreicht werden. Für diese vom lebenden Tier stammende Probe kommt insbesondere der Harn in Betracht und als Testmikroorganismus *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, der sich bei der Milchuntersuchung bereits bewährt hat. *Bacillus stearothermophilus* ist als besonders empfindlicher Keim bekannt. Andererseits muß damit gerechnet werden, daß im Harn auch unspezifische Hemmstoffe auftreten, die den Nachweis von Arzneimittelrückständen erschweren können.

Aufgabe dieser Arbeit war es zu prüfen, welche Möglichkeiten bestehen, um die Vorteile dieser Methodenkombination bei gleichzeitiger Eliminierung der Nachteile zu nutzen.

2. Schrifttum

2.1. Vorkommen von Hemmstoffen in Fleisch und Organen von Schlachttieren im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung und bei Normalschlachtungen

Leistungssteigerung und schnelles Wachstum landwirtschaftlicher Nutztiere haben Probleme hygienischer und wirtschaftlicher Art mit sich gebracht und damit die Antibiotika in der Nutztierhaltung unentbehrlich gemacht.

Da sie nicht nur therapeutisch, sondern auch in zunehmendem Maße prophylaktisch und nutritiv Verwendung finden, muß damit gerechnet werden, daß nicht nur bei Krank- und Notschlachtungen, sondern auch bei normalgeschlachteten Tieren Antibiotikarückstände im Fleisch vorkommen.

Aufgrund der Tatsache, daß es durch Antibiotika zu einem verzögertem oder unterdrücktem Wachstum pathogener Keime kommen kann (KALICH und MERKENSCHLAGER, 1958; MEYN et al., 1960; CLARENBURG und KAMPELMACHER, 1957) wird von Hemmstoffentesten zuerst im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung berichtet (KOTTER, 1960; FORSCHNER, 1962), da bei solchen Tieren eine therapeutische Dosis am ehesten zu erwarten ist. Erst während der letzten Jahre wird vermehrt von Hemmstoffuntersuchungen bei Normalschlachtungen berichtet, wobei zum Ausdruck kommt, daß die Anwendung von Antibiotika leider oft massiert und kritiklos erfolgt.

Die Ergebnisse, über die im Schrifttum berichtet wird, sind in tabellarischer Form in Tabelle I (Untersuchungen im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung) bzw. in Tabelle II (Untersuchungen bei Normalschlachtungen) zusammengefaßt.

Tabelle I
Ergebnisse von Hemmstoffuntersuchungen an schlachtbaren Haustieren
im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	Insgesamt	Kalb	Schwein	Rind
KOTTER (1960)	Nierenextrakte 500	Staph.aureus ATCC 6538 P	76 (15,2)			
FORSCHNER (1962)	Niere 6584	B.subtilis CN 841	388 (5,9)	(10)	(4,9)	(4,2)
KÄMPFELMÄCHER et al. (1962)	Harnproben 51 Rinder 13 Schw. 31 Kälber	B.subtilis Staph.aureus Staph.albus	27 (28,4)	18 (58)	3 (23)	6 (12,8)
KIND (1966)	Niere 500	B.subtilis CN 841	16 (3,2)			
LORENZEN (1967)	Niere 11436	B.subtilis	148 (1,3)	(1,2)	(1,2)	(1,4)
WÜLLERT (1968)	Muskulatur 36 Schw. 57 Kälber 126 Rinder	S.lutea		13 (22,8)	3 (8,3)	17 (13,5)

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	insgesamt	Kalb	Schwein	Rind
BONFERT und BERRANG (1969)	Niere, Leber, Gallenblase	B. subtilis B. cereus Staph. aureus M. aureus	(8,25)			
MEYER, THIEL und WEISS (1969)	Niere 2716 Rinder 703 Kälber 1496 Schw.	B. cereus B. subtilis Staph. aureus	681 (13,8)	252 (35,8)	125 (8,3)	304 (11,2)
TAKACS und KOVACS (1969)	Niere 173 Rinder 28 Kälber	B. subtilis Staph. aureus S. lutea E. coli		12 (42,8)		40 (23,1)
GEMMER und SEEGER (1970)	Niere, Leber, Muskulatur Milz, Lymphknoten 1640 Rinder 516 Kälber 1670 Schw.	B. cereus	(8,6)	67	105	144
DEDEK et al. (1971)	2354 Rinder 400 Kälber 2288 Schw.	B. subtilis Staph. aureus		18 (4,5)	17 (0,74)	24 (0,01)

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Verfasser	Art und Anzahl der Proben		Testkeime	Insgesamt	Kalb	Schwein	Rind
DRAHEIM (1971)	Niere	720 Rinder 291 Kälber 219 Schw.	Staph. aureus	144 (11,5)	60 (20,6)	23 (10,5)	60 (8,5)
MANTEL (1971)	Niere	2337 Rinder 861 Kälber 841 Schw.	B. subtilis BGA	354 (8,7)	114 (13,3)	106 (5,7)	134 (5,8)
SAWATSKI (1971)	Niere, Muskulatur	1043 Rinder 141 Kälber 790 Schw.	B. subtilis S. lutea	270 (13,6)	38 (26,9)	90 (11,4)	84 Kälhe 58 Bullen
WENZEL (1971)	Niere, Leber, Milz Muskulatur	231 Rinder 164 Schw.	B. subtilis B. cereus Staph. aureus			(9,1)	(30,3)
BECK und MANTEL (1972)	Niere, Muskulatur	3017 Rinder 2225 Schw. 1120 Kälber	B. subtilis BGA		(24)	(7,7)	(8,8)
BENTLER und ZETTL (1972)	Niere, Leber, Muskulatur	5346	B. subtilis BGA	658 (12,3)	(31,8)	(8)	(16,1)

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	insgesamt	Kalb	Schwein	Rind
BETHKE und PÜSCHNER (1972)	Niere, Leber, Muskulatur 11089 Rinder 4232 Kälber 5261 Schw.	B. subtilis BGA	(13)	914 (22)	338 (7)	1398 (12)
KLEIBEL (1972)	Niere 118	B. subtilis BGA	24 (20,3)			

Tabelle II

Ergebnisse von Hemmstoffuntersuchungen bei Normalschlachtungen

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	Kalb	Schwein	Rind
Zahl und Prozentsatz (in Klammern) der positiven Hemmstoffnachweise					
VAN SCHOTHORST (1965)	Harnproben 3032 Schw. 1004 Rinder 1893 Kälber	B. subtilis Staph. aureus Staph. albus	1459 (77)	6 (0,2)	10 (0,1)
BARTELS (1970)	Niere 1000 Schw. 91 Kälber	M. aureus	27 (30)	0	
GISSKE et al. (1970)	Niere, Leber, Muskulatur 1409 Schw. 1004 Rinder 1508 Kälber	B. cereus B. subtilis Staph. aureus	1016 (67,3)	33 (2,3)	55 (5,5)
SCHAPER (1970)	Niere, Leber, Milz, Muskulatur 1200 Schw. 900 Rinder 1235 Kälber	B. cereus B. subtilis Staph. aureus	777 (63,1)	33 (2,7)	0
BARTELS, ANGERSBACH und KLARE (1972)	Niere, Leber, Muskulatur 521 Schw. 274 Rinder 137 Kälber	B. subtilis BGA	(82,5)	(14,6)	(5,8)

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	Kalb	Schwein	Rind
HEILMANN (1971)	Niere, Leber, Muskulatur 938 Schw. 686 Rinder 481 Kälber	B. subtilis (Bremen)	307 (63,9)	29 (3,09)	12 (1,89)
MANTEL (1971)	Niere 433 Kälber	B. subtilis BGA	83 (19)		
WENZEL (1971)	Niere, Milz, Leber Muskulatur 1409 Schw. 1004 Rinder 1508 Kälber	B. cereus B. subtilis (Bremen) Staph. aureus	812	33	55
BECK und MANTEL (1972)	Niere 593 Schw. 402 Rinder 1917 Kälber	B. subtilis BGA	682 (35,5)	6 (1)	1 (0,2)
BENTLER und ZETTL (1973)	Muskulatur 104 Schw. 45 Rinder 1067 Kälber	B. subtilis BGA	316 (29,6)	0	1 (2,2)

Zahl und Prozentsatz (in Klammern)
der positiven Hemmstoffnachweise

Verfasser	Art und Anzahl der Proben	Testkeime	Kalb	Schwein	Rind
BETHCKE und PÜSCHNER (1972)	Niere 5004 Schw. 5210 Rinder 2111 Kälber	B. subtilis ATCC 6633	647 (30,6)	3 (0,06)	11 (0,2)
KLEIBEL (1972)	Niere 295 Kälber	B. subtilis BGA	25 (8,5)		

2.2. Nachweis von Hemmstoffen im Harn

Im Zusammenhang mit Ausscheidungsversuchen, auf die in nachfolgenden Kapiteln noch eingegangen wird, wird über den Antibiotikanachweis im Harn sowie über Konzentrationsverhältnisse und Ausscheidungsdauer von vielen Autoren berichtet.

Seltener hingegen werden Angaben über den Antibiotikanachweis im Harn bei Schlachttieruntersuchungen (Hemmstofftest) gemacht.

KAMPELMACHER et al. (1962) beschränkten sich in der Durchführung des Hemmstofftestes bei notgeschlachteten Tieren erstmals auf die alleinige Harnuntersuchung. Getestet wurden von ihm die Harnproben von 51 Rindern, 31 Kälbern und 13 Schweinen im Zylindertestverfahren, wobei die Harnprobe in die ausgestanzten Zylinder des mit Testkeimen präparierten Nährbodens pipettiert wurde. Als Testkeime verwendeten sie *Staph. aureus*, *Staph. albus* und *B. subtilis*. Insgesamt waren 28,4 % aller Proben positiv. Die meisten positiven Proben stammten von Kälbern (58%). Nachforschungen ergaben, daß ausschließlich Antibiotika in therapeutischen Dosierungen mit dieser Methode nachgewiesen werden konnten.

Mit der gleichen Methode, die KAMPELMACHER et al. anwendeten, untersuchte FRANSSSEN (1966) den Harn aus Blasen von solchen Tieren, bei denen er eine vorausgegangene Antibiotikabehandlung vermutete.

Als Testkeim verwendete er lediglich *Staph. aureus*. Von 308 Rinderharnproben waren 20 %, von 107 Kälberharnproben waren 58 % und von 42 Schweineharnproben waren 21,5 % positiv.

Die prozentualen Angaben der positiven Kälberharnproben decken sich hierbei mit den Angaben von KAMPELMACHER et al., die sie ebenfalls mit 58 % angaben.

Bei diesen Versuchen wurden Hemmzonen, die größer als 5 mm waren als positiv gewertet.

Bei weiteren Untersuchungen an Mastkälbern in drei Versuchsreihen, wobei diesmal Hemmzonen ab 3 mm als positiv betrachtet wurden, kamen sie zu folgenden Ergebnissen:

Versuchsreihe I: Von 272 Harnproben, die willkürlich aus insgesamt 90 Betrieben gewonnen wurden, waren 26,8 % positiv.

Versuchsreihe II: Von 119 Harnproben, die aus Beständen mit weniger als 10 Tieren stammten, waren 51,9 % positiv.

Versuchsreihe III: Von 390 Harnproben, die aus Beständen von 11 - 80 Tieren stammten, erwiesen sich 26,9 % als positiv.

Während von KAMPELMACHER et al. noch betont wurde, daß sich ihre Methode mit den Testkeimen *Staph. aureus*, *Staph. albus* und *B. subtilis* nur zum Nachweis von therapeutischen Gaben eignet, beschrieb VAN SCHOTHORST (1970) den Harntest mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* und Brillantschwarz als Indikator als so empfindlich, daß auch nutritive Gaben von Antibiotika zu positiven Resultaten führten. Die zu untersuchende Harnprobe wird in eine Vertiefung des Agar-Testkeim-Indikator-Gemisches pipettiert. Nach einer Diffusionszeit von 1 Stunde im Kühlschrank wird das Übermaß an Flüssigkeit aus den Vertiefungen durch Auflegen von Filterpapier entfernt. Nach zwei bis drei Stunden Bebrütungszeit bei 60 Grad Celsius im Wasserbad wird die Reaktion abgelesen. Um nutritive Verabreichungen von Antibiotika nicht zu erfassen, wird sogar vorgeschlagen den Harn 1:50 - 1:100 zu verdünnen.

Von HUBER, LEPPER und CARLSON (1969) wurden Harn und Faeces als Probenmaterial benützt. Zum Aufbringen der Proben wurden von ihnen Filzpapierblättchen verwendet. Als Testkeime wurden *B. subtilis* und *S. lutea* verwendet. Von 634 untersuchten Kälbern waren 20 %, von 536 untersuchten Schweinen 35 % und von 360 untersuchten Rindern 6 % positiv.

GISKE et al. (1970) haben als Paralelluntersuchung im Rahmen eines Hemmstofftestes im Agarlochtestverfahren mit *B. subtilis* als Testkeim den Harn von 30 Kälbern untersucht, wobei sich die Harnbefunde mit denen der anderen Organe (Niere und Leber) deckten.

Nach KLEIBEL (1972) sollten Harnproben in erster Linie als Untersuchungsmaterial zum Hemmstofftest Verwendung finden, da bei negativem Ausfall auch in den übrigen Organen keine biologisch wirksamen Mengen zu erwarten sind.

SCHMIDT, WOLTERSDORF, LINKE und LEISTNER (1972) stellten im BGA-Test mit Harnproben auch bei Kontrolltieren unspezifische Hemmungen fest. Allerdings zeigten die Harnproben der Kälber, an die CTC (Chlortetracyclin) oder OTC (Oxytetracyclin) verfüttert worden war, größere Hemmzonen als die Kontrollen. Im KUNDRAT-Test mit *B. stearothermophilus* traten jedoch keine falsch-positiven Ergebnisse auf. CTC war in diesem Fall zu 100%, OTC bei 30 ppm zu 60 % und bei 120 ppm zu 100% nachweisbar.

NOUWS (1973) untersuchte 2000 Harnproben von Kälbern, wobei er zum Aufsaugen des Harns Papierblättchen von 12,7 mm Durchmesser verwendete. Proben mit einem Hemmzonedurchmesser von mehr als 15 mm wurden als positiv gewertet.

Als Testkeime verwendete er *Sarcina lutea*, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus*, *B. subtilis* BGA und *B. stearothermophilus* var. *calidolactis*. Bei negativem Harnbefund waren in Nieren und Fleisch keine Rückstände zu finden.

Als ungeeignet wird von ihm die Methode von VAN SCHOTHORST beschrieben, da die stark schwankenden pH-Werte des Kälberharns (pH 4,9 bis 8,3), teilweise bedingt durch die verschiedenen Milchaustauschfutter, bei Verwendung von Brillantschwarz als Redoxindikator zu falsch positiven Ergebnissen führen.

NOUWS empfiehlt zur Durchführung des Harntestes eine Anreicherung des Nährbodens mit 0,2 % Eisensulfat und den Schnelltest mit *B. subtilis* BGA, auswertbar nach zweistündiger Bebrütung und danach Auswertung bei indirekter Beleuchtung gegen dunklen Hintergrund.

2.3. Pharmakokinetik von Antibiotika

Alle Antibiotika werden im Organismus mehr oder weniger um- und abgebaut, wobei die meisten dieser Um- und Abbaureaktionen als Oxidationen, Reduktionen, Hydrolysen oder Konjugationsvorgänge verlaufen und Inaktivierungsprozesse darstellen (WALTER und HEILMEYER, 1969).

Die Pharmakokinetische Wirkung ist neben der Applikationsart vor allem von folgenden Faktoren abhängig:

1. der physikalisch chemischen Eigenschaft des Antibiotikums
2. dem Stoffwechsel des Antibiotikums im Organismus und
3. dem Wirkungsmechanismus im Infektionserreger (SCHMID, 1969).

Die Ausscheidung der Antibiotika erfolgt über Harn, Galle, Faeces, Milch, Speichel und andere Sekrete. Als Hauptausscheidungsorgan kommt vor allem die Niere in Betracht. Sie eliminiert 30 - 60 %, teilweise sogar bis zu 100 % der Penicilline, des Erythromycins und Tylosins, der Tetracycline, des Chloramphenicols, sowie der Streptomycine und Polymyxine. Dabei werden die Penicilline besonders schnell (Größenordnung: Stunden), die Tetracycline und Polymyxine besonders langsam (Größenordnung: Tage) ausgeschieden. Bei Tetracyclinen und Polymycinen treten nach therapeutischer Dosierung bis zu 100 mcg pro ml Harn auf (WALTER und HEILMEYER, 1969; SCHMID, 1969). Diese Angaben beziehen sich auf den Menschen.

Zur therapeutischen Anwendung sind sowohl gut-, als auch schwerlösliche Präparate erwünscht, erstere zur raschen Erzeugung hoher Konzentrationen, letztere um hohe Antibiotikadosen zur langen Erhaltung wirksamer Konzentrationen gefahrlos verabreichen zu können. Nach SCHNEIBNER (1969) sind in öliger Suspension verabreichte Antibiotika am längsten im Körper nachweisbar.

Therapeutische Gaben von Penicillin einen Tag vor der Schlachtung konnten KOTTER (1959) und PIENING (1962) in der Niere nachweisen. KIND (1966) konnte von 12 Chemotherapeutika nur noch vier nachweisen, wenn zwischen Injektion und Schlachtung ein Zeitraum von 30 Stunden lag.

SLUZEWSKI und KINKE (zitiert nach SCHEIBNER, 1969) konnten nach Verabreichung von 10000 I.E. Penicillin pro kg Körpergewicht den Wirkstoff noch sieben Tage post appl. in den Organen nachweisen, jedoch nur drei Tage in der Muskulatur.

Die Literaturangaben über die Ausscheidungsdauer nach nutritiven Gaben sind recht unterschiedlich.

Nach BRÜGGEMANN und MERKENSCHLAGER (1958) zeigen Antibiotika erst bei 20-facher Überdosierung der normalen Fütterungsdosis, die bei nicht mehr als 1 mg Antibiotikum je kg pro Tag liegen soll, einen Hemmeffekt im Lebergewebe und erst bei 50-facher Überdosierung einen solchen in der Muskulatur.

MEYN et al. (1960) verfütterten 1500 mg Aureomycin an ein Kalb drei Stunden vor der Schlachtung und wiesen es hinterher in allen Organen nach. Dagegen konnten sie nach dreiwöchiger nutritiver Applikation von 80 bis 90 mg Aureomycin pro Tier und Tag den Wirkstoff nur in Niere und Leber nachweisen.

FREERKSEN (1954) stellte fest, daß die Verfütterung von täglich 20 mg Aureomycin über einen Zeitraum von sieben Tagen bis 17 Stunden vor der Schlachtung einen negativen Blut- und Organ Spiegel erbrachte.

BENTLER und ZETTL (1972) berichten, daß bei einer fünftägigen Absatzfrist vor der Schlachtung nach täglicher Zufütterung von 120 ppm CTC die Muskelproben im Hemmstofftest negativ reagierten, während Organe vereinzelt nach 14 Tagen noch Restaktivitäten zeigten. In diesem Zusammenhang wird von den Autoren eine individuelle und rassebedingte Ausscheidungskapazität in Betracht gezogen.

GIERKE et al. (1970) sind der Ansicht, daß sich bei fort-dauernder nutritiver Verabreichung von Antibiotika ein Gleichgewichtszustand zwischen Nierenausscheidung und Muskelspeicherung einstellen kann.

SAKARJAN (1967) fand nach Applikation verschiedener Antibiotika 30 bis 60 Minuten später einen maximalen Blutspiegelwert. Die Hauptmenge wird in den ersten drei Stunden mit dem Harn ausgeschieden;

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen SCHMIDT et al. (1972), die drei Stunden nach OTC- und CTC-Fütterung höhere Harnspiegel- als Blutspiegelwerte vorfanden.

VAN SCHOTHORST (1969) konnte sieben Tage nach therapeutischer Verabreichung von OTC diesen Wirkstoff im Harn nachweisen.

2.4. Vorkommen unspezifischer Hemmstoffe

Alle Substanzen, die in der Lage sind, bakteriostatisch oder bakterizid zu wirken, werden als Hemmstoffe bezeichnet. Bei der Hemmstoffuntersuchung mit mikrobiologischen Verfahren stellt sich immer wieder die Frage, ob unspezifische Hemmstoffe, d.h. solche außer Chemotherapeutika, die entweder als körpereigene Hemmstoffe oder als Hemmstoffe aus Futtermitteln vorkommen, das Untersuchungsergebnis verfälschen können.

2.4.1. Körpereigene Hemmstoffe

Die Existenz von Substanzen mit antimikrobieller Wirksamkeit war schon lange Zeit vor der Entdeckung der Antibiotika bekannt. So erwähnte bereits BUCHNER (zitiert nach SKARNES, 1957) im Jahre 1889 die keimhemmende Wirkung des zellfreien Blutserums. Da diese mikrobiologische Aktivität nach dem Erhitzen verloren-ging, schloß er daraus, daß dieses Phänomen durch Eiweißkörper hervorgerufen wurde.

Von FLEMING (1922) wurde über das Lysozym als keimhemmender Faktor gegenüber gramnegativen Bakterien und saprophytären Keimen berichtet. Von ILLES und IVANYI (1969) wurde dann nachgewiesen, daß Lysozym, das im Hühnerei in 1,5 mcg/g vorkommt, bereits in dieser Konzentration antibakterielle Wirksamkeit besitzt.

VAN HEYNINGEN (1951) beschrieb die bakteriostatische Wirkung des Hämatins.

Zu den körpereigenen Hemmstoffen zählen ferner bestimmte Aminosäuren, von denen WATSON (1952) das Lysin erwähnte. KATCHALSKY, BICHOVSKI-SLOMNITZKI und VOLCANI (1952) beschrieben neben diesem auch die Aminosäuren Ornithin und Arginin als keimhemmende Substanzen.

Blutabbauprodukte (Eisenporphyrinfarbstoffe), die in Muskulatur und Organen vorkommen, entfalten ebenfalls eine keimhemmende Aktivität (KOTTER, 1959; GAL und VAJDA, 1968).

Von EBRECHT und SEIFERT (1972) wurde in diesem Zusammenhang bei Schlachttieruntersuchungen über die unspezifische Hemmung durch Rohblut oder gerinnungsgehemmtes Blut sowie durch blutige Muskulatur berichtet.

SKARNES et al. (1957) unterteilten Blutinhaltsstoffe mit keimhemmender Wirkung in folgende zwei Gruppen:

a) Wirkung auf gramnegative Keime

Lysozym	Properdin
Komplement	Phagozytin

b) Wirkung auf grampositive Keime

β - Lysin	Leukin
Lysozym	Plakin
Histon	Hämatin
Protamin	Spermin
Polypeptide	Lactin

KOTTER et al. (1959) stellten fest, daß sogenannte Inhibine (körpereigene Hemmstoffe) in vermehrtem Umfang in Galle und Leber auftraten. Sie sprechen sogar von einer Eigenhemmung dieser Organe.

Eine keimhemmende Wirkung soll auch durch Milchsäure hervorgerufen werden (PEDERSEN, 1965; VAN SCHOTHORST, 1969).

Die Möglichkeit einer Beeinflussung des Hemmstofftests durch Milchsäure wurde dagegen von MANTEL (1971) und ROTH (1971) nicht bestätigt. Eine spurenhafte Beeinflussung von *B. subtilis* konnte nach ROTH erst bei 7 mg in 50 ml Phosphatpuffer festgestellt werden. Die Fleischproben, die im Hemmstofftest aufgelegt wurden, wiesen hingegen nur zwischen 0,5 und 0,7 mg pro ml auf.

Auch Fäulnisprodukte im Fleisch sollen unspezifische Hemmungen hervorrufen können (SCHAAL, 1961). BECK und MANTEL (1972), die aus Sektionsmaterial 22 *B. proteus*-Stämme und 21 hämolysierende *E. coli*-Stämme isolierten und auf Muskelfleisch brachten, konnten jedoch keine falsch-positiven Werte im Hemmstofftest ermitteln. GAL und VAJDA (1968) dagegen berichteten über die Bakterizidie des Nisins, einem Stoffwechselprodukt bestimmter Streptokokken.

Über Inhibine in frisch gemolkener Milch wurde ebenfalls berichtet (DOLD, 1934).

JOHNES und SIMMS (1930) schrieben dem Lactenin eine maßgebende Rolle bei der keimhemmenden Wirkung der Rohmilch zu. Der Hemmeffekt frischer Rohmilch kann einem Penicillingehalt von 0,5 E pro ml entsprechen (BRUNSCHWILLER, 1961).

Während von SINELL (1964) und WAGNER (1965) berichtet wird, daß über Herkunft und Struktur dieser Hemmstoffe noch keine Klarheit herrsche, zählten ASHTON et al. (1968) Lactotransferrin, Protaminsulfat, Casein und Poly-l-Lysin als Inhaltsstoffe der Milch auf, die *B. stearothermophilus* hemmen können.

REITER und ORAM (1967) messen ebenfalls dem Lactotransferrin eine keimhemmende Wirkung bei, die darauf beruht, daß Eisen-Ionen, die *B. stearothermophilus* zum Auskeimen in bestimmter Konzentration benötigt, zu einem Lactotransferrin-Fe-Komplex gebunden werden. Durch Zugabe von Eisen-Ionen ist diese Hemmung reversibel.

Natürliche Bakterizidie besitzen ferner einige Hormone (LESTER und HECHTER, 1958), und Fermente (GEORGAKIS, 1962).

2.4.2. Exogene Hemmstoffe

2.4.2.1. Pflanzlicher Herkunft

Bereits von den Botanikerärzten des Mittelalters wie MATTHIOLUS, HIERONYMUS BOCK und MATTHIAS de LOBEL wird eine Reihe von Pflanzen aufgeführt, die zur Heilung von Infektionen der Harnwege und zur Wundreinigung verwendet wurden (WAGNER, HÖRHAMMER und NUFER, 1965). Abgesehen von histotropen Effekten wird ihnen damit indirekt eine gewisse keimhemmende Wirkung zugemessen.

Unspezifische Hemmstoffe im Harn können aus Pflanzen stammen, wo sie bereits als solche oder als deren Vorstufen enthalten sind. Bei Pflanzenfressern kommen dabei im wesentlichen Pflanzen oder Pflanzenteile in Betracht, die als Futtermittel dienen. Über die Vielfalt der Wirkstoffe, die in Pflanzen vorkommen, wird in der Literatur ausreichend berichtet. So z.B. von VIRTANEN (1958) über Isoflavone als antimikrobielle Substanz in Kleearten und über Chlorogensäure in Kartoffelblättern und Möhren. Benzoxazolinon soll in jungen Mais-, Roggen- und Weizenpflanzen als stark wirksamer Hemmstoff auftreten (VIRTANEN, 1958, WINTER, 1959). Von VIRTANEN (1969) werden schwefelhaltige Cysteinderivate und Peptidderivate als Stoffe mit antibiotischer Wirkung betrachtet (z.B. Methylcysteinsulfoxyd in der Zwiebel). GAL (1968) beschreibt die wachstumshemmende Eigenschaft der Wirkstoffe Capsaicin und Capsicidin der Gewürzpaprika auf *B. subtilis* und *B. cereus*. GAL und VAJDA (1968) berichten von der mikrobiologischen Aktivität des Harzes an der Oberfläche weiblicher Hanfblüten.

Mit Ausnahme der Isoflavone, die als Hemmstoffe evtl. bei Grünfütterung im Harn auftreten können, kommen vorher genannte Wirkstoffe als unspezifische Hemmsubstanzen im Harn bei Tieren nicht in Betracht.

Bedeutsam sind jedoch Senfölglykoside (Thiocyanate oder Isothiocyanate), die als Vorstufe der Senföle in zahlreichen Pflanzenarten vorkommen. Von vielen Autoren wird die besonders starke antibiotikaähnliche Aktivität der Senföle, insbesondere des Benzylsenföles (in der Kapuzinerkresse vorkommend), gegenüber grampositiven und gramnegativen Erregern übereinstimmend hervorgehoben (GERMER, 1954; HALBEISEN, 1954; WINTER, 1954; STICKL, 1955; PULVERER, 1968).

Diese Senföle befinden sich in der Pflanze glykosidisch gebunden, d.h. in nicht aktiver Form und werden erst durch Zerreiben der Pflanze (z.B. durch Kauen) enzymatisch in Senföle übergeführt (VIRTANEN, 1958; WINTER, 1959 ; KJAER, 1960). Eine Wachstumshemmung der Mikroorganismen kommt dadurch zustande, daß die Thiocyanate bzw. Isothiocyanate (tautomere Form) mit den SH-Gruppen der Sulfhydrylenzyme der Mikroorganismen reagieren und damit deren katalytische Funktion verhindern. Außerdem sollen sie eine Denaturierung von Zellmembranbestandteilen bewirken (ZSOLNAI, 1966).

Über die Untersuchung höherer Pflanzen auf Hemmstoffe liegen recht unterschiedliche Ergebnisse vor. Von WINTER (1952 a) wurden die Blätter von 1283 Arten höherer Pflanzen untersucht, wobei 378 (29,5 %) eine deutlich wachstumshemmende Wirkung auf *E. coli*, *Staph. aureus* und *B. subtilis* zeigten.

OSBORN (1943) dagegen untersuchte ein Gemisch verschiedener Pflanzenorgane von 2300 Arten, von denen 358 (16 %) aktive Wirkstoffe beinhalten.

Dagegen fanden SANDERS et al. (1945) bei 120 Pflanzen, von denen sie den ausgepressten Saft untersuchten, nur 10 % mit keimhemmendem Effekt.

Den höchsten Anteil hemmstoffhaltiger Pflanzenarten mit 60 % fanden FREERKSEN und BÖNIKE (1951). Die stärkste keimhemmende Wirkung zeigte dabei eine Königsfarnart.

Innerhalb der Pflanzenarten konnten sie Unterschiede feststellen. So zeigten z.B. bei Kreuzblütlern 76,4 %, bei Schmetterlingsblütlern 63,6 % und bei Rosaceen 75 % keimhemmende Eigenschaften, während bei der Untersuchung von Moospflanzen 29,2 % mikrobiologische Aktivität aufwiesen. Nach WINTER (1959) enthielten 51 Gräserarten schwach keimhemmende Substanzen, die nicht näher identifiziert wurden.

Die mikrobiologische Aktivität der Pflanzen ist innerhalb der Vegetationsperiode außerordentlich unterschiedlich (FREERKSEN und BÖNIKE, 1951; WINTER, 1952 b; KJAER, 1960). Bei jungen Pflanzen ist die keimhemmende Wirkung meist stärker ausgeprägt. Sie ist jedoch ebenso von Klima und Standort abhängig wie von der Art des Pflanzenteiles.

FREERKSEN und BÖNIKE (1951), WINTER (1952 a) sowie ROBINSON (1964) fanden den höchsten Gehalt an Senfölglykosiden bei der Familie der Kruziferen, denen etwa 1500 Arten angehören. KJAER (1965) fand unter 300 Kruziferenarten keine einzige, die frei von Senfölglykosiden ist. In weiteren, recht unterschiedlichen Pflanzenfamilien wie Euphorbiaceae, Phytolaccaceae und Plantaginaceae (z.B. Spitzwegerich) fand er ebenfalls Senfölglykoside vor.

Eine weitere Rolle für die Thiocyanatausscheidung spielt auch die Aufnahme cyanidhaltiger Pflanzen, wobei die Blausäure in Leber und Niere zu Rhodanid entgiftet wird (STEGER, PIATKOWSKI und PÜSCHEL, 1965).

Mit Isothiocyanaten als Reinsubstanzen wurden von GOHSOYR (1964) und ZSOLNAI (1966) Versuche angestellt, wobei deren antimikrobielle Wirkung bestätigt wurde.

KLIMA (1966) weist auf die Möglichkeit hin, daß die in einigen Pflanzen vorkommenden antibakteriell wirkenden Substanzen den Hemmstofftest positiv beeinflussen können. Besonders bei Grünfütterung traten Hemmzonen auf, die auf eine spurenhafte Beeinflussung des Testkeimes hinwiesen.

WELZ (1967) konnte jedoch diese Beobachtungen durch Fütterungsversuche mit Meerschweinchen nicht bestätigen. Bei Milchuntersuchungen stellte ZEITRÄG (1970) fest, daß futterbedingte Hemmstoffe nach Fütterung von Rübsen, Markstammkohl, Schlempe u.a. in unerhitzter Milch das Wachstum von *Sarcina lutea* in den meisten Fällen hemmen können. Die Größe der Hemmhöfe entsprach dabei durchaus denen, die nach Applikation von größeren Mengen eines Antibiotikums hervorgerufen wurden.

Zahlenangaben über die Wirkungsintensität von Senfölen weisen zumindest auf die Möglichkeit hin, daß durch sie ebenfalls eine keimhemmende Wirkung im Harn und Organen von Schlachttieren hervorgerufen werden können.

Nach WINTER (1953) ist das in der Kapuzinerkresse (*Tropaeolum majus*) stammende Benzylsenföl bei einer Verdünnung von 1:20 Millionen noch gegen *Staph. aureus* wirksam. STICKL (1954) fand, daß *E. coli* noch bei einer Konzentration von 1: 1 Million bis 1:3 Millionen vollständig gehemmt wird. HALBEISEN (1954) berichtet bei 0,5 bis 0,25 mcg pro ml von einer völligen Bakterio-
stase gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien.

Die Ausscheidung der Isothiocyanate erfolgt hauptsächlich über den Harn, bei hohen Dosen auch über Schweiß- und Speicheldrüsen (STICKL, 1955 a).

WINTER (1959) wies anhand eines Selbstversuches mit Meerrettich, der ebenfalls Senföl enthält, die flüchtigen Hemmstoffe wenige Stunden nach oraler Aufnahme im Harn nach. Bei Verzehr von 55 mcg pro kg Körpergewicht des Benzylsenföles wird bereits ein antibakterieller Harnspiegel erreicht (WINTER, 1954). Er tritt frühestens zwei Stunden nach oraler Gabe auf und erreicht sein Maximum nach fünf bis zehn Stunden (GERMER, 1954).

STICKL (1955 a) verfütterte 90 bis 110 ml des Benzylsenföles an Meerschweinchen und konnte bereits nach ein bis zwei Stunden den antibakteriellen Effekt im Harn feststellen. Desgleichen wurden Fütterungsversuche von FREEKSEN und BÖNIKE (1951) durchgeführt. Sie verfütterten Blätter des Spitzwegerichs an Kaninchen und konnten ebenfalls aktive Stoffe im Harn feststellen.

2.4.2.2. Sonstige Herkunft

Bei Milchuntersuchungen kommen hierbei Chemikalien in Betracht wie Reinigungs- und Desinfektionsmittel oder zugefügte Konservierungsmittel, die bakteriostatisch oder bakterizid wirken können (TERPLAN und ZAADHOF, 1967). Über das Auftreten und die Wirkung solcher Substanzen im Hemmstofftest bei Schlachttieren wird wenig berichtet. KUNDRAT (1968) ist der Ansicht, daß die Konzentration solcher Substanzen im Fleisch unter der den Hemmstofftest beeinflussenden Grenze liegt.

Von BENTLER und ZETTL (1972) wurden 87 Wildtiere untersucht, von denen 47 hemmstoffpositive Befunde zeigten. Da bei Wildtieren die Aufnahme von Schädlingsbekämpfungsmitteln nicht auszuschließen ist, untersuchten die Verfasser eine Anzahl von Insektiziden, Herbiziden und Fungiziden, von denen einige noch bei einer Verdünnung von 1:10000 einen hemmenden Effekt erkennen ließen.

KREUZER und AIGNER (1971) berichten über die nicht antibiotisch keimhemmenden Substanzen Carbadox und Payzone, die als "Feed-Additives" in der Mast verwendet werden. Nach KUNDRAT (1973) kommen auch einigen Sedativa wie Stresnil, Hypnodil und Rompun keimhemmende Eigenschaften zu.

2.5. Empfindlichkeit der Testkeime *B. subtilis* und *B. stearothermophilus* gegenüber Hemmstoffen

Die meisten der in Hemmstofftesten verwendeten Keime sind aerobe Sporenbildner, deren Vorteile darin bestehen, daß sie apathogen sind und unter ungünstigen Verhältnissen Dauerformen (Sporen) bilden. Ihre Empfindlichkeit ist sowohl vom Milieu als auch von der Art des Antibiotikums abhängig. LEVETZOV (1971) vertritt die Ansicht, daß Keime, die gegenüber einem bestimmten Antibiotikum resistent sind, grundsätzlich auch gegenüber allen anderen Antibiotika unempfindlicher sind.

Während *B. subtilis* bei Hemmstoffuntersuchungen von Fleisch und Organen einen festen Platz einnimmt, wurde *B. stearothermophilus* dagegen bisher nur selten verwendet bzw. seine Brauchbarkeit oft angezweifelt.

Umgekehrt verhält es sich jedoch beim Hemmstoffnachweis in der Milch.

BUCHMANN (1972) verglich die Empfindlichkeit von *B. subtilis* und *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* bei bekanntem Testmaterial und Reinsubstanzen, wobei sich letzterer als der empfindlichere Testkeim erwies. Mit *B. subtilis* BGA konnten nur in den ersten zwei Tagen innerhalb der fünftägigen Sperrfrist nach Antibiotikabehandlung von Milchkühen positive Ergebnisse erzielt werden, während mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* in einzelnen Fällen der Penicillinnachweis während der gesamten fünf Tage gelang.

Er ermittelte folgende untere Nachweisgrenzen:

B. subtilis BGA	0,1 IE Penicillin/ml	
B. stearothermophilus var. calidolactis	0,002 IE Penicillin/ml	
B. subtilis BGA	5 mcg	Aureomycin/ml
B. stearothermophilus var. calidolactis	1 mcg	Aureomycin/ml
B. subtilis BGA	10 mcg	Chloramphenicol/ml
B. stearothermophilus var. calidolactis	1 mcg	Chloramphenicol/ml

Zum Hemmstoffnachweis in Milch ist daher, besonders wegen seiner größeren Penicillinempfindlichkeit B. stearothermophilus var. calidolactis als Testkeim B. subtilis BGA vorzuziehen. Penicillin ist heute noch immer das am häufigsten in der Mastitisbekämpfung eingesetzte Antibiotikum.

Auch von HENTSCHKE (1972) wird über Vergleichsuntersuchungen mit B. subtilis und B. stearothermophilus var. calidolactis berichtet. Dabei wurden 485 Rohmilchproben mit beiden Testkeimen auf ihren Gehalt an Hemmstoffen untersucht. Drei Milchproben enthielten Penicillin, das nur mit B. calidolactis nachgewiesen werden konnte. B. subtilis zeigte bei 17 Milchproben eine positive Reaktion an, die jedoch nach dem Erhitzen der Proben sich als negativ erwies.

Für B. subtilis wird von ihm die Empfindlichkeit gegenüber Penicillin mit 0,05 IE pro ml angegeben, für B. calidolactis mit 0,003 IE pro ml.

Bei Hemmstofftesten in der Fleischuntersuchung wird von vielen Autoren B. subtilis als der empfindlichere Keim gegenüber anderen Testkeimen berichtet, wobei jedoch mit B. calidolactis nicht vergleichend untersucht wurde. (BONFERT und BERRANG, 1969; PICHNARCICK, WENZEL und GISKE, 1969; GISKE et al., 1970; MEYER, 1970; SAWATZKI, 1971).

Von SCHAAL (1972) wurden eingehende Untersuchungen über die Empfindlichkeit von 23 Testkeimen gegenüber verschiedenen Antibiotika angestellt, wobei er kritisierte, daß bei den bisher durchgeführten Tests die Empfindlichkeit des Keimes bei relativ hohen Konzentrationen gemessen wurde. Vergleiche der Hemmhofgrößen verschiedener Keime bei solchen Konzentrationen ergeben nach seiner Ansicht kein objektives Bild über die Empfindlichkeit, sondern lassen lediglich eine relative Sensibilität erkennen. SCHAAL ist der Meinung, daß als Maßstab nur die absolute Empfindlichkeit, gemessen als MHK (minimale Hemmkonzentration) als Kriterium gelten kann.

B. subtilis 165 und B. subtilis BGA zeigen bei 100 mcg Chloramphenicol die gleiche maximale Hemmkonzentration. Die MHK liegt hingegen bei B. subtilis 165 bei 0,5 mcg und bei B. subtilis BGA bei 1 mcg. Wenn die MHK als Empfindlichkeitsmaßstab herangezogen würde, so sollen nach SCHAAL folgende Keime zur Erfassung aller Antibiotika besonders geeignet sein:

- B. subtilis Bremen
- B. subtilis VUA Krefeld
- B. subtilis BGA
- B. subtilis CN 841
- B. subtilis ATCC 6633
- B. subtilis B 54

Die geringste ~~Mina~~ gegenüber Penicillin zeigt B. subtilis B 54 mit 0,0005 mcg/ml.

MHK verschiedener Antibiotika (auszugsweise nach SCHAAL, 1972)

	pH 6	MHK (mcg/100 ul)	pH 8
B. subtilis Bremen			
CTC	0,0008 mcg		0,001 mcg
Tetracyclin	0,005 mcg		0,008 mcg
B. stearothermophilus			
var. calidolactis			
Penicillin - G	0,0005 mcg		--
Tetracyclin	0,008 mcg		--

Für die Routineuntersuchung im Hemmstofftest bei Schlacht-
tieren scheidet nach SCHAAL B. stearothermophilus var. calido-
lactis aus, da er nach seiner Versuchsanordnung (Doppelansatz
bei pH 6 und pH 8) bei pH 8 kein auswertbares Wachstum zeigt.

Von KUNDRAT (1973) wurde die Empfindlichkeit von B. subtilis
und B. calidolactis auf verschiedenen Nährböden verglichen,
wobei die Hemmfläche in qmm im Gegensatz zu den sonst üblichen
Gepflogenheiten als Vergleichsmaßstab verwendet wurde:

Testkeim		B. subtilis BGA		B. calidolactis	
Nährboden		BGA		KU	
pH-Wert		6,0	6,0	7,0	7,0
Konzentration	mcg				

Benzyl - penicillin	0,5 E	616	491	531	1590
	2 E	755	707	415	1886
	5 E	804	908	573	2043
Ampicillin	2	804	707	616	2043
	10	1018	962	707	2376
Tetracyclin	5	452	314	227	284
	10	543	380	284	452
Oxytetra- cyclin	30	491	415	284	415
Chloram- phenicol	5	314	227	284	346
	10	314	227	234	415
	30	472	460	494	573
Strepto- mycin	2	227	755	415	380
	25	346	855	531	707

KU = Nährboden nach KUNDRAT

Durch Zugabe von 0,05 % P3-triquart konnte KUNDRAT eine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung von *B. stearothermophilus* erreichen. Hierin wird von ihm eine Möglichkeit gesehen, auch die mit *B. stearothermophilus* bisher nicht erfaßbaren Konservierungs- und Desinfektionsmittel nachzuweisen.

Zur Klärung der Frage, ob für den Nachweis in Hemmstoffen bei Schlachttieren die Möglichkeit eines Schnelltestes besteht, wurden von FLECK (1973) neben Antibiotika-Reinsubstanzen hemmstoffpositive Nieren von not- und krankgeschlachteten Tieren, Leber - und Muskelproben von Tieren, deren Nieren hemmstoffpositiv waren, hemmstofffreien Nieren von normalgeschlachteten Tieren, sowie hemmstofffreien Muskelproben von not- und krankgeschlachteten Tieren mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 und *B. subtilis* BGA untersucht.

Er kam zu dem Ergebnis, daß sich *B. calidolactis* nur zum Nachweis von Hemmstoffen in Niere, Leber und Muskulatur vom Rind und Kalb sowie Leber und Muskulatur vom Schwein eignet. Versagt hat nach seinen Ergebnissen der Test bei Schweinenieren, da auch hemmstofffreie Schweinenieren als "hemmstoffpositiv" angezeigt wurden.

B. subtilis BGA erwies sich als Testkeim für den Hemmstoffnachweis bei Rind, Schwein und Kalb als ebenso brauchbar wie *B. calidolactis* und ist nach Ansicht des Verfassers diesem, trotz längerer Untersuchungszeit vorzuziehen, da bei *B. subtilis* BGA weder falsch positive noch falsch negative Ergebnisse auftraten.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

Untersucht wurden Muskel-, Nieren- und Harnproben von 160 Schweinen und 61 Kälbern mit unbekannter Vorgeschichte und solchen, bei denen Fütterung, Haltung sowie die etwaige Verabreichung von Chemotherapeutika bekannt waren. Das Probenmaterial gelangte entweder in tiefgefrorenem Zustand oder frisch (d.h. wenige Stunden nach der Schlachtung) zur Untersuchung.

Sämtliche Proben wurden von gesunden, normalgeschlachteten Tieren genommen.

Die Schweine wurden in den Schlachthöfen München, Straubing und Passau geschlachtet und stammten aus dem jeweiligen Einzugsgebiet dieser Schlachthöfe. Bei den Kälbern handelte es sich teils um Tiere aus Westfalen, die im Münchener Schlachthof geschlachtet wurden, teils um Kälber aus dem Augsburger Schlachthof.

Das Probenmaterial von den Tieren mit bekannter Vorgeschichte wurde im Rahmen eines Ringversuches getestet, an dem mehrere Institute teilnahmen.

Es bestand aus 49 Kälbern und 40 Schweinen, an die, Kontrollen ausgenommen, verschiedene Arzneimittel zu unterschiedlichen Zeiten vor der Schlachtung appliziert worden waren. Sofern nicht schon aus der Bezeichnung die Zusammensetzung der Medikamente zu erkennen ist, handelte es sich um:

Duoprim = Trimethoprim und Sulfadoxin

Prednobiota = Procain - Penicillin, Dihydrostreptomycin,
Neomycin, Prednisolon und Vitamine

Voren = Dexamethason-21 Isonicotinat

Erysorb = Rotlauf-Adsorbatvaccine

Ferner wurde noch eine Anzahl Harnproben von lebenden Kälbern und Rindern getestet.

3.2. Methode

Aus tiefgefrorenem Material, dessen Oberfläche zuvor abgeflammt wurde, wurden mittels einer Gewebsstanze mit einem Durchmesser von 8 mm zylinderförmige Stücke aus dem Nierenmark sowie der Muskulatur entnommen und auf den präparierten Nährboden aufgelegt.

Bei Verwendung frischen Materials wurde jeweils ein ca. erbsengroßes Stück des Organs herausgeschnitten.

Das Aufbringen der Harnproben auf den Nährboden geschah mittels eines Filterpapierblättchens, dessen Saugkapazität ca. 0,1 ml betrug. Die Untersuchungen erfolgten mit zwei Testkeimen:

1. *B. subtilis* BGA im Doppelansatz bei pH 6,0 und pH 8,0
2. *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* (im folgenden *B. calidolactis* genannt) bei pH 7,0.

3.2.1. *B. subtilis* BGA

Als Nährboden für *B. subtilis* BGA wurde der Standard-II-Nähragar der Firma Merck verwendet. Der pH-Wert des gebrauchsfertigen Nährbodens betrug bei 37 Grad Celsius 7,4 bis 7,6. Zur Herstellung wurde das Pulver mit destilliertem Wasser gelöst, dann zur völligen Homogenisierung in den Dampftopf gebracht und anschließend bei 120 Grad Celsius 15 Minuten autoklaviert. Eine pH-Korrektur auf pH 6 bzw. pH 8 erfolgte vor und nach dem Autoklavieren mit Salzsäure bzw. Natronlauge. Nach Abkühlung auf ca. 50 Grad Celsius wurden pro 100 ml Agar 0,1 ml einer Sporensuspension pipettiert, die auf 1 Million Keime pro ml eingestellt war. 10 ml dieses Gemisches in eine Petrischale gegossen, ergab eine Schichtdicke von 2mm.

Auf eine dieser Platten wurden jeweils vier Proben aufgelegt. Die Bebrütungszeit betrug bei 30 Grad Celsius 24 Stunden. Ausgemessen (in mm) wurde der Abstand vom Filterpapierblättchen-Rand bis zum Beginn der Bakterienwachstumszone, was in Zweifelsfällen unter Zuhilfenahme eines Plattenmikroskops geschah.

5.2.2. *B. calidolactis*

Als Nährboden für *B. calidolactis* wurde Plate Count Agar (Oxoid) verwendet, der ebenfalls in destilliertem Wasser gelöst, anschließend im Dampftopf homogenisiert und dann autoklaviert wurde.

Der pH-Wert betrug 7,0 und mußte im Gegensatz zum Standard-II-Nähragar weder vor noch nach dem Autoklavieren korrigiert werden.

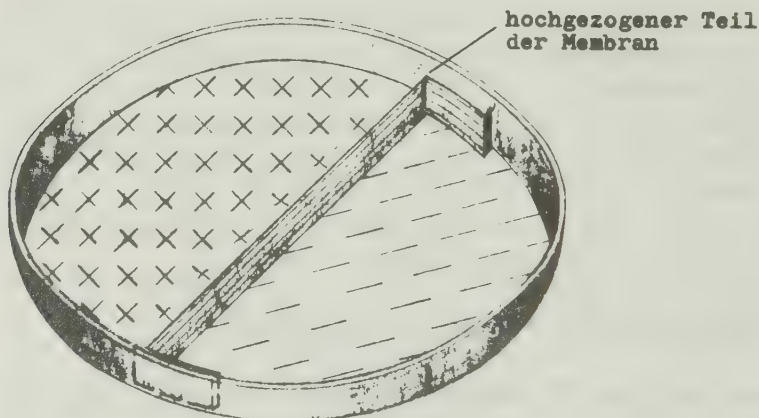
Pro 100 ml Agar wurden 5 ml einer auf 5 Millionen Sporen pro ml eingestellten Sporensuspension gegeben.

Herstellung der Petrischale mit Membran

Eine semipermeable Membran (Dialysierschlauch), deren Porengröße ca. 50 Angström betrug und die sich in Vorversuchen als undurchlässig für Hühnereiweiß -Lysozym erwies, wurde mittels einer angefertigten Papierschablone so zurechtgeschnitten, daß sich damit der Boden einer Petrischale zur Hälfte bedecken ließ und der senkrecht nach oben abgeknickte Teil zugleich eine Trennwand von 5 mm Höhe bildete, welche die Petrischale und nach Ausgießen des Nährboden-Testkeimgemisches auch dieses in zwei Hälften unterteilte. (Abbildung S. 36)

Zur Vermeidung einer unspezifischen Hemmung durch anhaftende Rückstände sowie zur leichteren Handhabung wurden die zurechtgeschnittenen Membranfolien vor dem Einspannen in die Petrischale 2 bis 3 Stunden in destilliertes Wasser gelegt. Die Fixierung bis zum Ausgießen und Erstarren des Nährbodens erfolgte mit Büroklammern am Rande der Schale.

Schematische Darstellung einer Petrischale mit semipermeabler Membran.



Bei diesen "Membranplatten" wurden jeweils 4 Proben entlang einer Seite der Membran aufgelegt. Die Bebrütung betrug 3 - 4 Stunden bei 63 Grad Celsius.

Hemmstoffe, die nur auf der Probenseite der Membran Hemmhöfe bildeten, wurden als nicht diffusibel und negativ, solche die eine durch die Membran durchgehende Hemmzone verursachten als diffusibel und positiv gewertet, ohne dabei zunächst die Frage der Spezifität zu berühren.

Zur Überprüfung aller Testplatten auf gleichmäßige Beschaffenheit wurde jede Fertigungsserie mit Penicillin-G-Testplättchen (0,01 I.E. pro Plättchen) geprüft, wobei eine Standardisierung durch gleichgroße Hemmzonen gegeben war. (B. subtilis: 5 mm; B. calidolactis : 6 mm)

Harngewinnung

Bei geschlachteten Tieren wurde Blase mit Inhalt nach der Schlachtung entweder tiefgefroren oder der Harn ohne vorheriges Tiefgefrieren nach Eröffnen der Blase verwendet.

Bei lebenden Kälbern war die Gewinnung der Harnproben bei männlichen Tieren unproblematisch. Ihnen wurde ein Plastikbeutel mittels Schnüren oder eines Gummibandes umgebunden. Bei weiblichen Kälbern funktionierte diese Methode in vielen Fällen durch schwierige Fixierungsmöglichkeit des Plastikbeutels nicht. Hier war die Katheterisierung der zeitsparendere Weg.

Untersuchung von Harnproben nach Zusatz von Eisen-II-Ionen

Zur Absättigung etwa vorhandener Transferrine und sonstiger mit Fe-Ionen komplexbildender Substanzen wurde den Harnproben soviel Eisen-II Chloridlösung zugesetzt, daß eine millimolare Lösung entstand.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Tiermaterial mit unbekannter Vorgeschichte

Von 160 Schweinen und 61 Kälbern aus Normalschlachtungen wurden Harnproben mit *B. subtilis* bei pH 6 und pH 8 sowie mit *B. calidolactis* mit und ohne Membran bei pH 7 vergleichend auf das Vorkommen von Hemmstoffen getestet. Bei *B. subtilis* und *B. calidolactis* ohne Membran wurde eine Probe als positiv gewertet, wenn sie bei einem pH-Wert einen Hemmhof ab 2 mm aufwies. Unter Einbeziehung der Membran zur Erkennung unspezifischer Hemmstoffe wurde jeder klar erkennbare Hemmhof, der durch die Membran durchging ab 1 mm als positiv betrachtet. Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengefasst. Von weiteren 40 Kälbern wurden Harnproben nur mit *B. calidolactis* mit und ohne Membran untersucht.

Tabelle I

Hemmstoffpositive Befunde bei Harnuntersuchungen von Schweinen und Kälbern aus Normalschlachtungen mit *B. subtilis* und *B. calidolactis*

Tierart	Anzahl d. unters. Harnproben	Anzahl (und Prozentsatz) der positiven Proben			
		<i>B. subtilis</i>	<i>B. calidolactis</i> ohne Membran	<i>B. subtilis</i> mit Membran	<i>B. cal. mit</i> Membran (*)
Schweine	160	18 (11%)	20 (12,5%)	6 (3,7%)	5 (3,1%)
Kälber	61	50 (81,9%)	51 (82%)	46 (75,4%)	44 (72,1%)

(* übereinstimmende positive Proben

Tabelle II

Hemmstoffpositive Befunde bei Harnuntersuchungen von 40 normalgeschlachteten Kälbern mit *B. calidolactis*.

Anzahl der Harnproben	Anzahl (und Prozentsatz) der positiven Proben	
	ohne Membran	mit Membran
40	33 (82,5%)	24 (60%)

Mit den in Tabelle I untersuchten Kälbern ergibt sich daraus eine Gesamtzahl von 101 untersuchten Kälberharnproben, von denen insgesamt 70 (69,3%) bei *B. calidolactis* mit Membran positiv waren.

Während sich bei Schweinen maximal 12,5 % der Harnproben als positiv erwiesen, waren bis 82,5 % der von Kälbern stammenden Proben mit *B. calidolactis* hemmstoffhaltig. Der entsprechende Prozentsatz war bei *B. subtilis* nur geringfügig kleiner. Durch die Membran wurde vor allem bei den Schweineharnen die Zahl der positiven Proben vermindert. Bei den Kälbern war dies in geringerem Umfang der Fall.

In Tabelle III sind die Ergebnisse der Hemmstoffuntersuchungen von Nieren und Muskulatur der Tabelle I entsprechenden Tiere zusammengefaßt.

Tabelle III

Hemmstoffpositive Befunde bei Nieren- und Muskelproben der Tabelle I entsprechenden Tiere

Tierart	Anzahl d. Proben Niere Muskel	Anzahl (und Prozentsatz) der positiven Proben			
		B.subtilis	B.calidolactis		B.subtilis + B.cal.mit Membran (*)
			ohne Membran	mit Membran	
Schweine	160	11	45	5	4
		(6,8%)	(28,1%)	(3,1%)	(2,5%)
	160	2	7	2	1
		(1,2%)	(4,3%)	(1,2%)	(0,6%)
Kälber	61	42	52	28	26
		(68,9%)	(85,2%)	(45,9%)	(42,6%)
	61	6	14	7	2
		(9,8%)	(22,9%)	(11,4%)	(3,2%)

(* übereinstimmende positive Proben)

Tabelle III zeigt, daß B. calidolactis ohne Membran deutlich häufiger positiv reagiert als B. subtilis, daß dann allerdings mittels Membran die Zahl der durch diffusible Hemmstoffe bedingten Hemmzonen erheblich reduziert wird.

Ein Vergleich der Übereinstimmung der mit *B. subtilis* und mit *B. calidolactis* mit Membran erhaltenen in Tabelle I und III bereits dargestellten Ergebnisse ist in Tabelle IV zusammengefaßt.

Tabelle IV

Vergleich der mit den Testkeimen *B. subtilis* und *B. calidolactis* (mit Membran) in Tabelle I und III erfaßten positiven Proben

Anzahl der Proben Tierart	Anzahl (und Prozentsatz) der positiven Proben					
	B. subtilis			B. calidolactis mit Membran		
	Niere	Harn	Muskel	Niere	Harn	Muskel
160 Schweine	11 (6,8%)	18 (11%)	2 (1,2%)	5 (3,1%)	6 (3,7%)	2 (1,2%)
61 Kälber	42 (68,9%)	50 (81,9%)	6 (9,8%)	28 (45,9%)	46 (75,4%)	7 (11,4%)

Mit *B. subtilis* wurden demnach bei der Harnuntersuchung von 160 Schweinen 18 (11%) und mit *B. calidolactis* (mit Membran) dagegen nur 6 (3,7%) als positiv befunden. Bei der Untersuchung der Nieren waren es 11 (6,8%) bzw. 5 (3,1%).

Bei 61 Kälberharnproben waren es 50 (81,9%), die mit *B. subtilis* bzw. 46 (75,4%), die mit *B. calidolactis* (mit Membran) positiv reagierten. Die dazugehörigen Nierenproben waren in 42 (68,9%) bzw. in 28 (45,9%) der Fälle positiv.

Tabelle V

Anteil der durch die Membranmethode erfaßten, nicht diffusiblen Hemmstoffe, bei Nieren-, Harn- und Muskelproben

Tierart	Anzahl d. Proben			Anzahl (und Prozentsatz) der Proben mit nicht diffusiblen Hemmstoffen		
	Niere	Harn	Muskel	Nierenproben	Harnproben	Muskelproben
Schweine	160			108(67,5%)		
		160			58(37,3%)	
			160			64(40%)
Kälber	61			31(50,8%)		
		101			23(37,7%)	
			61			41(67,2%)

Von denen die Membran nicht diffundierenden Hemmstoffen bildeten auf dem membranfreien Nährboden bei Schweinenierenproben 40, bei Schweineharnproben 18, bei Kälbernierenproben 24 und bei Kälberharnproben 16 Hemmzonen, die gleich oder größer als 2 mm waren.

Da es sich bei den bisher untersuchten Kälbern ausschließlich um solche handelte, die aus Mastbetrieben stammten und bei denen eine Beifütterung von Antibiotika wahrscheinlich gewesen war, läßt sich zwar einerseits die relativ hohe Anzahl an positiven Befunden (75,4 % positive Harnproben mit *B. calidolactis* mit Membran) erklären, andererseits ist jedoch nicht auszuschließen, daß trotz der semipermeablen Folie unspezifische diffusible Stoffe zu falsch positiven Ergebnissen führten.

Weitere Versuche wurden daher mit Harnproben von 10 Saugkälbern aus sechs Kleinbetrieben durchgeführt, wovon eines nach Angabe des Besitzers zwei Tage vor der Harnentnahme mit einem antibiotikahaltigen Antidiarrhoikum behandelt wurde, während die übrigen keine Medikamente oder antibiotikahaltiges Futter bekommen hatten (Tabelle VI). Außerdem wurde der Harn von 12 Kühen untersucht, die ebenfalls keine Medikamente erhalten hatten (Tabelle VII).

Tabelle VI

Untersuchung von Saugkälberharnproben mit *B. calidolactis*

Proben- Nr.	Hemmhofgrößen (in mm)	
	ohne Membran	mit Membran
1	2,5	Ø
2	3	2,5
3 *	6	5
4	1	Ø
5	Ø	Ø
6	3	1,8
7	Ø	Ø
8	2	Ø
9	1,5	Ø
10	2	Ø

Zeichenerklärung: Ø = negativ

* = behandeltes Kalb

Aus Tabelle VI ist zu entnehmen, daß der Harn des behandelten Kalbes einen deutlichen Hemmhof zeigte, der auch mit Membran kaum kleiner wurde. Auch in weiteren Proben waren diffusible Hemmstoffe.

Tabelle VII

Untersuchung der Harnproben von 12 Kühen mit *B. calidolactis*

Proben- Nr.	Hemmhofgrößen (in mm)	
	ohne Membran	mit Membran

1	1	Ø
2	2,5	2
3	5	3
4	1,5	Ø
5	Ø	Ø
6	2,5	Ø
7	1,5	Ø
8	1,5	Ø
9	2,5	2
10	2	Ø
11	Ø	Ø
12	Ø	Ø

Zeichenerklärung: Tabelle VI

Von diesen untersuchten Kuhharnproben ergaben neun Hemmzonen von denen sich drei als diffusibel erwiesen. Weder bei den Harnproben der Saufrälber, noch bei den Harnproben der Kühe ließ sich die Größe der Hemmzonen durch Erhitzen des Harns beeinflussen.

3.3.2. Tiermaterial mit bekannter Vorgeschichte

a) Kälber

Am 13.08.1973 wurde am Münchener Schlachthof 49 Kälber geschlachtet, an die zu unterschiedlichen Zeiten vor der Schlachtung verschiedene Medikamente verabreicht worden waren. Einige davon blieben unbehandelt und dienten als Kontrolle.

Tabelle VIII

Ergebnisse von Harnuntersuchungen bei Kälbern mit definierter Vorgeschichte

Nr.d. Harnproben	Hemmhöfe (in mm) bei B.calidolactis		Zeitpunkt d. Applikation	Medikamente
	ohne Membran	mit Membran		
1	11	11	12.08.	Penicillin- Streptomycin
2	0,5	Ø	12.08.	Duoprim
3	3	2,5	11.08.	Tylosin
4	10	10	11.08.	Penicillin
5	4,5	4	12.08.	Duoprim
6	3,5	Ø	Kontrolle	
7	5,5	4,5	11.08.	OTC
8	3,5	3	11.08.	Tylosin
9	1	Ø	11.08.	Duoprim
10	3	1,5	11.08.	Duoprim
11	4,5	4	11.08.	Prednobiota
12	10	9	12.08.	Penicillin- Streptomycin
13	2	Ø	Kontrolle	
14	4	2	Kontrolle	
15	3,5	3,5	12.08.	Tylosin
16	8,5	7,5	12.08.	Prednobiota

Tabelle VIII (Fortsetzung)

Nr. d. Harnproben	Hemmhöfe (in mm) bei		Zeitpunkt d. Applikation	Medikamente
	B.calidolactis ohne Membran	mit Membran		
17	1,5	Ø	Kontrolle	
18	2	2	11.08.	OTC
19	2,5	2	11.08.	OTC
20	6,5	5,5	12.08.	Prednobotad
21	11	10	12.08.	Penicillin- Streptomycin
22	2	1,5	11.08.	Tylosin
23	4	4	11.08.	Penicillin- Streptomycin
24	3,5	3	11.08.	OTC
25	4	3,5	12.08.	Tylosin
26	3	2	12.08.	Tylosin
27	5	4	11.08.	Duoprim
28	13,5	13	12.08.	Penicillin
29	7,5	6	12.08.	Tylosin
30	2	Ø	Kontrolle	
31	4,5	4	12.08.	Chloramphenicol
32	3,5	3	12.08.	Chloramphenicol
33	5	4	12.08.	Prednobotad
34	17	16	12.08.	Penicillin
35	8	7	11.08.	Penicillin
36	2	2	11.08.	Prednobotad
37	Ø	Ø	Kontrolle	
38	6	5	11.08.	Prednobotad
39	3,5	3,5	11.08.	Prednobotad
40	2	1,5	12.08.	Duoprim
41	9	8	12.08.	Prednobotad
42	5,5	4	12.08.	Chloramphenicol

Tabelle VIII (Fortsetzung)

Nr.d. Harnproben	Hemmhöfe (in mm) bei		Zeitpunkt d. Applikation	Medikamente
	B.calidolactis ohne Membran	mit Membran		
43	5,5	5,5	12.08.	Chloramphenicol
44	6	5	11.08.	OTC
45	5	3	12.08.	Chloramphenicol
46	6	5,5	12.08.	Chloramphenicol
47	22	20	11.08.	Penicillin
48	9	8,5	12.08.	Tylosin
49	13	10	11.08.	Tylosin

Ø = negativ

Aus Tabelle VIII geht hervor, daß auch die Kontrollen ohne Membran meist Hemmhöfe zeigten, die mit Membran bis auf einen verschwanden. Durch antibiotikabedingte Hemmhöfe werden auch durch Einschaltung der Membran nur geringfügig kleiner. Duoprim (Trimethoprim und Sulfadoxin) wies kleine Hemmhöfe auf (Plate Count Agar!).

b) Schweine

Ein weiterer Ringversuch wurde am 17.10.1973 durchgeführt. Geschlachtet wurden 48 Schweine, die ebenfalls zu unterschiedlichen Zeiten vor der Tötung mit Antibiotika und anderen Medikamenten behandelt worden waren. Einige blieben als Kontrolltiere unbehandelt.

Tabelle IX

Ergebnisse von Harnuntersuchungen bei Schweinen mit definierter Vorgeschichte

Nr. d. Harnproben	Hemmhöfe (in mm) bei B.calidolactis		Zeitpunkt d. Applikation	Medikamente
	ohne Membran	mit Membran		
1	6,5	5	15.10.	Rotlauf- Vakzine
2	12	11	16.10.	Penicillin- Streptomycin
3	6	5	15.10.	Tylosin
4	12,5	11,5	16.10.	Penicillin- Streptomycin
5	4	3,5	16.10.	Tylosin
6	3,5	3	15.10.	Tylosin
7	2,5	Ø	Kontrolle	
8	7,5	6,5	15.10.	Penicillin- Streptomycin
9	6	5	15.10.	Tylosin
10	4,5	4	16.10.	CTC
11	8	6	15.10.	Rotlauf- Vakzine

Tabelle IX (Fortsetzung)

Nr. d. Harnproben	Hemmhöfe(in mm) bei B.calidolactis		Zeitpunkt d. Applikation	Medikamente
	ohne Membran	mit Membran		
12	6	5	15.10.	Tylosin
13	2,5	1,5	15.10.	Chloramphenicol
14	3,5	2,5	16.10.	CTC
15	3	2,5	16.10.	CTC
16	7	6	15.10.	Penicillin- Streptomycin
17	3,5	3,5	15.10.	Chloramphenicol
18	5	4,5	15.10.	CTC
19	4	3,5	15.10.	CTC
20	8	7	15.10.	Rotlauf- Vakzine
21	1,5	Ø	16.10.	Voren
22	12	11	16.10.	Penicillin- Streptomycin
23	2	Ø	Kontrolle	
24	5	4,5	16.10.	Chloramphenicol
25	3	Ø	Kontrolle	
26	4,5	4	16.10.	CTC
27	Ø	Ø	16.10.	Voren
28	3,5	3,5	16.10.	Tylosin
29	14	13	16.10.	Penicillin- Streptomycin
30	3	Ø	Kontrolle	
31	4	3,5	16.10.	Chloramphenicol
32	12,5	11,5	16.10.	Penicillin- Streptomycin
33	3,5	2,5	16.10.	CTC
34	10	10	15.10.	Penicillin- Streptomycin
35	13	12	16.10.	Penicillin- Streptomycin
36	4,5	3	16.10.	Chloramphenicol
37	3,5	3	16.10.	CTC
38	12,5	12	15.10.	Penicillin- Streptomycin
39	1,5	Ø	Kontrolle	
40	12,5	12	16.10.	Penicillin- Streptomycin
41	4	3	16.10.	Voren
42	9,5	9	16.10.	Penicillin- Streptomycin
43	2	1,5	16.10.	Voren
44	4	3,5	16.10.	Chloramphenicol
45	2,5	Ø	Kontrolle	
46	6,5	5,5	16.10.	Rotlauf-Vakzine
47	6	5	16.10.	Tylosin
48	6	5,5	16.10.	Tylosin

Tabelle IX weist ähnliche Ergebnisse wie Tabelle VIII auf. Positive Kontrollen konnten durch die Membran immer als negativ eliminiert werden. Überraschend waren nach Verabreichung von Rotlauf-Adsorbat-Vakzine diffusible Hemmstoffe im Harn aufgetreten.

3.3.3. Untersuchung der Harnproben nach Zusatz von Eisen-II-Ionen.

Die in Tabelle VI und VII aufgeführten Harnproben wurden nach Zusatz von Eisen-II-Chloridlösung auf Hemmstoffgehalt untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle X bzw. XI zusammengefaßt.

Tabelle X

Untersuchung der in Tabelle VI aufgeführten Kälberharnproben nach Zusatz von Eisen-II-Ionen mit *B. calidolactis*

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)			
	ohne	mit	ohne	mit
	Membran	Membran	Membran	Membran
			mit Fe-II-Ionen	
1	2,5	Ø	0,5	Ø
2	3	2,5	1	Ø
3(*)	6	5	4,5	4
4	1	Ø	Ø	Ø
5	Ø	Ø	Ø	Ø
6	3	1,8	1	Ø
7	Ø	Ø	Ø	Ø
8	2	Ø	Ø	Ø
9	1,5	Ø	Ø	Ø
10	2	Ø	0,5	Ø

(* Zeichenerklärung : Tabelle VI

Tabelle XI

Untersuchung der in Tabelle VII aufgeführten Harnproben von Kühen nach Zusatz von Eisen-II-Ionen mit *B. calidolactis*.

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)			
	ohne	mit	ohne	mit
	Membran	Membran	Membran	Membran
	mit Fe-II-Ionen			
1	Ø	Ø	Ø	Ø
2	2,5	2	1	Ø
3	5	3	3	1
4	1,5	Ø	1	Ø
5	Ø	Ø	Ø	Ø
6	2,5	Ø	Ø	Ø
7	1,5	Ø	Ø	Ø
8	1,5	Ø	Ø	Ø
9	2,5	2	1	Ø
10	2	Ø	0,5	Ø
11	Ø	Ø	Ø	Ø
12	Ø	Ø	Ø	Ø

Bei den Harnproben von Kälbern mit bekannter Vorgeschichte konnten durch Kombination von Membran und Eisen-II-Ionen alle Hemmstoffe unbekannter Art und Herkunft ausgeschaltet werden (Tabelle X) und bei den Harnproben unbekannter Vorgeschichte ließen sich Hemmstoffe bis auf eine Probe eliminieren.

In Tabelle XII sind die Ergebnisse von weiteren 30 Kälberharnproben unbekannter Vorgeschichte zusammengefaßt.

Tabelle XII

Untersuchung der Harnproben von 30 Mastkälbern mit *B. calidolactis* mit und ohne Membran bzw. Eisen-Zusatz.

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)			
	ohne Membran	mit Membran	ohne Membran	mit Membran
			mit Fe-II-Ionen	
1	2,5	Ø	Ø	Ø
2	8	7	6	5,5
3	5	5	3	2
4	Ø	Ø	Ø	Ø
5	9	7	8	6
6	6	5	3,5	3
7	7,5	6	6	6
8	1,5	Ø	Ø	Ø
9	9	8	7	6,5
10	2	Ø	Ø	Ø
11	1,5	Ø	Ø	Ø
12	3	2	2,5	Ø
13	3	1,5	2	Ø
14	9	8,5	8	6,5
15	5	4,5	3,5	2,5
16	2	Ø	Ø	Ø
17	Ø	Ø	Ø	Ø
18	1,5	Ø	Ø	Ø
19	3	1	1,5	Ø
20	7	6	4,5	4
21	8	7	6	6
22	2	Ø	Ø	Ø
23	1	Ø	Ø	Ø
24	5	5	3,5	3
25	5	4	4	3,5
26	5	4,5	4,5	4
27	5	5	4	3,5
28	5	4	4	3,5
29	6	5	5	4
30	3,5	2,5	2	Ø

Aus Tabelle XII kann entnommen werden, daß die Hemmstoffe, die Hemmzonen bis 3,5 mm verursachen entweder durch die Membran oder durch Eisenzusatz, bei den Proben 12, 13, 19 und 30 oder erst durch die Kombination der beiden Faktoren ausgeschaltet werden. Hemmhöfe von 5 mm und größer (Hemmhöfe zwischen 3,5 und 5 mm traten nicht auf) erwiesen sich als diffusibel und konnten auch durch Eisen nicht beseitigt werden. Allerdings traten insbesondere bei der Kombination Membran-Eisen deutliche Größenabnahmen der Hemmzonen auf.

In Tabelle XIII sind Ergebnisse der Untersuchungen von Harnproben nach Eisenzusatz von den Kälbern aufgeführt mit bekannter Vorgeschichte, die im Rahmen des Ringversuches am 13.08.1973 geschlachtet wurden und vorher mit verschiedenen Medikamenten behandelt worden waren (Tabelle VIII).

Tabelle XIII

Untersuchung der Harnproben von 49 Kälbern mit B. calidolactis mit und ohne Membran bzw. Eisenzusatz

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)				Medikamente
	ohne Membran	mit Membran	ohne Membran mit Fe-II-Ionen	mit Membran	
1	11	11	10	10	Penicillin-Streptomycin
2	0,5	Ø	Ø	Ø	Duoprim
3	3,5	2,5	2,5	2	Tylosin
4	10	10	9	8,5	Penicillin
5	4,5	4	4	3,5	Duoprim
6	3,5	Ø	1	Ø	Kontrolle
7	5,5	4,5	4,5	4	OTC
8	3,5	3	3	3	Tylosin
9	1	Ø	Ø	Ø	Duoprim
10	3	1,5	2,5	2	Duoprim
11	4,5	4	3,5	3,5	Prednobiostat
12	10	9	8,5	7,5	Penicillin-Streptomycin
13	1	Ø	0,5	Ø	Kontrolle
14	4	2,5	2	Ø	Kontrolle
15	3,5	3,5	3	2,5	Tylosin
16	8,5	7,5	8	7	Prednobiostat
17	1,5	Ø	Ø	Ø	Kontrolle
18	2	2	2,5	1	OTC
19	2,5	2	2	2	OTC
20	6,5	5,5	5,5	5	Prednobiostat
21	11	10	9	9	Penicillin-Streptomycin
22	2	1,5	2	1	Tylosin
23	4	4	3	3	Penicillin-Streptomycin
24	3,5	3	3	3	OTC

Tabelle XIII (Fortsetzung)

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)				Medikamente
	ohne Membran	mit Membran	ohne Membran mit Fe-II-Ionen	mit Membran	
25	4	3,5	3,5	2,5	Tylosin
26	3	2	2	1,5	Tylosin
27	3	2	2	1,5	Duoprim
28	13,5	13	11	10	Penicillin-Streptomycin
29	7,5	6	6	5,5	Tylosin
30	2	Ø	1	Ø	Kontrolle
31	4,5	4	3,5	3	Chloramphenicol
32	3,5	3	3	3	Chloramphenicol
33	5	4	4	3,5	Prednobotad
34	17	16	15	14	Penicillin-Streptomycin
35	8	7	6,5	6	Penicillin-Streptomycin
36	2	2	1,5	1	Prednobotad
37	Ø	Ø	Ø	Ø	Kontrolle
38	6	5	5	5	Prednobotad
39	3,5	3,5	3	3	Prednobotad
40	2	1,5	2	1	Duoprim
41	9	8	7	6,5	Prednobotad
42	4,5	4	3,5	3	Chloramphenicol
43	5,5	5,5	4,5	4	Chloramphenicol
44	6	5	5,5	5	OTC
45	5	3	4	3	Chloramphenicol
46	6	5,5	5	5	Chloramphenicol
47	22	20	20	1	Penicillin-Streptomycin
48	9	8,5	7	6,5	Tylosin
49	13	10	11,5	9,5	Tylosin

Aus Tabelle XIII kann entnommen werden, daß mit Ausnahme von Duoprim in einem Fall (Nr. 2) alle Behandlungen über den Harn nachgewiesen werden konnten. Unspezifische Hemmstoffe, die bei den Kontrollen mit einer Ausnahme auftraten konnten meist schon durch die Membran in einem Fall (Nr. 14), jedoch erst durch die Kombination ausgeschaltet werden. Im übrigen verhalten sich die Ergebnisse ähnlich wie in den vorhergehenden Versuchen.

Die in Tabelle XIV aufgeführten Untersuchungen entsprechen denjenigen aus Tabelle IX, wobei die Harnproben mit Eisen-II-Chlorid versetzt wurden. Es handelt sich um Schweine mit bekannter Vorgeschichte, die im Rahmen des Ringversuches am 17.10.1973 geschlachtet wurden.

Tabelle XIV

Untersuchung der Harnproben von 48 Schweinen mit B. calidolactis mit und ohne Membran bzw. Eisenzusatz

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)				Medikamente
	ohne	mit	ohne	mit	
	Membran	Membran	Membran	Membran	
			mit Fe-II-Ionen		
1	6,5	5	5	4	Rotlauf-
2	12	11	10,5	9,5	Vakzine
3	6	5	5	4,5	Penicillin-
4	12,5	11,5	11	10,5	Streptomycin
5	4	3,5	3,5	3	Tylosin
6	3,5	3	2,5	2	Tylosin
7	2,5	Ø	1,5	Ø	Kontrolle
8	7,5	6,5	6,5	5,5	Penicillin-
9	6	5	5	4,5	Streptomycin
10	4,5	4	3,5	3	Tylosin
11	8	6	7	5,5	CTC
12	6	5	5	4,5	Rotlauf-
13	2,5	1,5	2	1	Vakzine
14	3,5	2,5	2,5	2	Tylosin
15	3	2,5	2,5	2,5	Chloramphenicol
16	7	6	6,5	5,5	CTC
17	3,5	3,5	3	2,5	CTC
18	5	4,5	4	3,5	Penicillin-
19	4	3,5	3,5	3	Streptomycin
20	8	7	7	5	Chloramphenicol
21	1,5	Ø	1	Ø	CTC
22	12	11	11	10,5	Rotlauf-
					Vakzine
					Voren
					Penicillin-
					Streptomycin

Tabelle XIV (Fortsetzung)

Proben-Nr.	H e m m h o f g r ö ß e n (in mm)				Medikamente
	ohne Membran	mit Membran	ohne Membran	mit Membran	
			mit Fe-II-Ionen		
23	2	Ø	1,5	Ø	Kontrolle
24	5	4,5	4	3,5	Chloramphenicol
25	3	Ø	2	Ø	Kontrolle
26	4,5	4	3,5	3	CTC
27	Ø	Ø	Ø	Ø	Voren
28	3,5	3,5	2,5	2	Tylosin
29	14	13	12,5	12	Penicillin-Streptomycin
30	3	Ø	2,5	Ø	Kontrolle
31	4	3,5	3	2,5	Chloramphenicol
32	12,5	11,5	11,5	10,5	Penicillin-Streptomycin
33	3,5	2,5	3	2	CTC
34	10	10	9	8,5	Penicillin-Streptomycin
35	13	12	12	11,5	Penicillin-Streptomycin
36	4,5	3	4	3	Chloramphenicol
37	3,5	3	3	3	CTC
38	12,5	12	11	10,5	Penicillin-Streptomycin
39	1,5	Ø	0,5	Ø	Kontrolle
40	12,5	12	11,5	10,5	Penicillin-Streptomycin
41	4	3	2,5	2	Voren
42	9,5	9	8,5	8,5	Penicillin-Streptomycin
43	2	1,5	1	1	Voren
44	2,5	Ø	1,5	Ø	Chloramphenicol
45	6,5	5,5	4,5	3,5	Kontrolle
46	6	5	5	4	Rotlauf-Vakzine
47	6	5,5	5	4,5	Tylosin
48	6	5,5	5	4,5	Tylosin

Auch bei diesen Ergebnissen (Tabelle XIV) konnten die unspezifischen Hemmstoffe bei den Kontrollen ausgeschaltet werden und zwar schon durch die Membran. Die nach Rotlaufimpfung aufgetretenen Hemmhöfe wurden durch die Kombination Membran-Eisen um 2,5 bis 3mm verringert, während die durch Antibiotika verursachten meist nur um 1,5 mm kleiner wurden. Es überrascht, daß Voren (Nr. 41 und 43) diffusible Hemmstoffe provoziert.

3.3.4. Vergleich zwischen den eigenen Untersuchungen mit *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* und denjenigen eines Ringversuches mit *B. subtilis*

Im Rahmen eines Ringversuches an dem 14 Institute beim Kälberversuch und 13 Institute beim Schweineversuch beteiligt waren, wurden Muskulatur und Niere von Kälbern und Schweinen mit *B. subtilis* auf Hemmstoffe untersucht. Es handelt sich um dieselben Tiere, von denen die Harnproben in den eigenen Untersuchungen mit *B. calidolactis* untersucht worden waren (Tabelle XIII und XIX). In Tabelle XV und XVI ist ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen des Ringversuches zusammengefaßt.

Tabelle XV

Vergleich der Harnuntersuchung mit *B. calidolactis* und der Nierenuntersuchung mit *B. subtilis* im Rahmen eines Ringversuches (Kälber)

Medikament	Applikation Std. vor d. Schlachtung	Zahl der Tiere	positive Harnproben <i>B. calidolactis</i>			mit <i>B. subtilis</i> untersuchte Nierenproben +)	davon positiv
			ohne Membran	mit Membran	mit Membran + Fe		
Kontrolle	-	6	4	0	0	84	2
Chloramphenicol	20	6	6	6	6	84	0
OTC	44	6	6	6	6	84	28
Duoprīm	44	4	3	3	3	56	5
Duoprīm	20	3	3	3	3	42	34
Tylosin	44	4	4	4	4	56	6
Tylosin	20	4	4	4	4	56	11
Prednobiota	44	4	4	4	4	56	14
Prednobiota	20	4	4	4	4	56	23
Penicillin-Streptomycin	44	4	4	4	4	56	46
Penicillin-Streptomycin	20	4	4	4	4	56	56

+) An dem Ringversuch nahmen 14 Institute teil

Aus Tabelle XV geht hervor, daß die Antibiotika mit der eigenen Methode (mit Membran mit oder ohne Eisen) alle erfaßt werden konnten. Insbesondere bei Chloramphenicol weist die eigene Methode eine 100% ige Erfassung des Hemmstoffes auf, während mit *B. subtilis* in 64 Proben Chloramphenicol nicht nachweisbar war. Bei Duoprim wurden von vier Proben nur drei erfaßt, mit *B. subtilis* von 56 nur fünf bzw. 36 von 42. Die falsch positiven Kontrollen konnten mit Membran bis auf eine und mit zusätzlichem Eisen-II vollständig ausgeschieden werden.

Vergleich der Harnuntersuchung mit *B. calidolactis* und der Nierenuntersuchung mit *B. subtilis* im Rahmen eines Ringversuches (Schweine)

Medikament	Applikation Std. vor d. Schlachtung	Zahl der Tiere	positive Harnproben <i>B. calidolactis</i>			mit <i>B. subtilis</i> untersuchte Nierenproben +)	davon positiv
			ohne Membran	mit Membran	mit Membran + Fe		
Kontrolle	-	6	5	0	0	78	6
Tylosin	44	4	4	4	4	52	3
Tylosin	20	4	4	4	4	52	23
Voren	20	4	2	2	2	52	4
Erysorb	44	4	4	4	4	52	9
Chloramphenicol	20	6	6	6	6	78	12
Penicillin-Streptomycin	44 ganze Dosis	4	4	4	4	52	51
Penicillin-Streptomycin	20 halbe Dosis	4	4	4	4	52	52
Penicillin-Streptomycin	20 ganze Dosis	4	4	4	4	52	51
CTC	3x1000 ppm gefülltert	4	4	4	4	52	51
CTC	1x1000 ppm gefülltert	4	4	4	4	52	51

+) An dem Ringversuch nahmen 13 Institute teil

Aus Tabelle XVI geht ebenfalls hervor, daß mit der eigenen Methode (mit Membran mit oder ohne Eisen) alle Antibiotika erfaßt werden konnten. Insbesondere bei Chloramphenicol und Tylosin bei einer Absatzfrist von 44 Stunden, konnte mit der eigenen Methode noch 100 % erfaßt werden. Mit *B. subtilis* waren es bei Chloramphenicol von 78 Proben nur 12 und bei Tylosin (44 Stunden Absatzfrist) von 52 nur 3, die nachweisbar waren. Die falsch positiven Kontrollen konnten bereits mit Membran ohne Eisen-II-Ionen ausgeschaltet werden. Auffallend war, daß auch die Rotlauf-Adsorbat-Vakzine zu 100 % erfaßt wurde, während sie mit *B. subtilis* in 52 Proben nur 9 mal nachgewiesen wurde.

4. Diskussion

Das Bestreben des Gesetzgebers, die Lebensmittel generell, insbesondere die tierischen Ursprungs, frei von Rückständen zu halten, hat zu einer Novellierung der Ausführungsbestimmungen A zum Fleischbeschaugesetz Veranlassung gegeben. Danach sollen neben allen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung unterliegenden Tierkörper stichprobenweise auch normal geschlachtete Tiere einer Untersuchung auf Hemmstoffe unterzogen werden. Das neue Verfahren bedingt, daß die Tierkörper, die stichprobenweise der Untersuchung unterzogen werden, schicksalhaft ausgewählt werden müssen und dann dem Verfügungsberechtigten zunächst für ein bis zwei Tage entzogen sind. Das bedingt u.a. wirtschaftliche Verluste, die durch Schwund, mangelnde Eignung zur Verarbeitungsfähigkeit, Umdispositionen u.a.m. gegeben sind. Tierkörper, bei denen ein positiver Hemmstoffnachweis geführt wird, werden entweder ganz, sofern die Hemmstoffe auch in der Muskulatur vorhanden sind, oder nur partiell (Organe) untauglich beseitigt.

Eine Möglichkeit diese Verluste, sei es daß sie durch vorläufige Beschlagnahme oder sogar durch Maßregelung entstehen, weitgehend zu verhindern, könnte mit einer Vorverlegung der Untersuchung auf Hemmstoffe auf das lebende Tier erreicht werden. Es bieten sich dazu an die Untersuchung des Harnes oder die Untersuchung von Organproben die durch Biopsie entnommen worden sind. EBRECHT und SEIFERT (1972) haben in diesem Zusammenhang die Leberbiopsie vorgeschlagen. Dieses Verfahren ist zweifellos ein wesentlicher Eingriff der u.U. nicht reaktionslos vertragen wird und möglicherweise auch zu Komplikationen führen kann. Es bedarf jedenfalls noch weiterer Untersuchungen um die Praktikabilität dieses bioptischen Verfahrens zu prüfen.

Abgesehen davon ist aus den bisherigen Arbeiten der genannten Autoren zu entnehmen, daß auch die Leber von hemmstofffreien Tieren im biologischen Hemmstofftest positive Reaktionen verursachen kann.

Die Untersuchung des Harns erscheint dagegen weniger problematisch zu sein, sofern der Harn auch ohne Schwierigkeiten entnommen werden kann, z.B. bei weiblichen Tieren, die katheterisiert werden können oder bei männlichen Tieren, bei denen ein Beutel am Tierkörper so befestigt wird, daß der Harn aufgefangen werden kann. In der Praxis wird die Harnprobenentnahme zweifellos erheblichen Schwierigkeiten begegnen und es bedürfte sicher noch vieler Überlegungen hier einen praktikablen Weg zu finden.

Ein weiterer Nachteil, der dem gegenwärtigen vorgeschriebenen Verfahren anhaftet, ist die Anwendung von *B. subtilis* als Testkeim, da die mit den Proben beschichteten Nährboden-Testkeimgemische etwa 18 bis 24 Stunden bebrütet werden müssen, um die Ergebnisse des Hemmstoffnachweises auswerten zu können. Gemessen an den Nachweisen anderer Rückstände, z.B. Östrogene oder Methylthiouracil (MTU) erscheint dieser Zeitraum zwar nicht so lang, diese Stoffe besitzen jedoch gegenüber den Hemmstoffen in der Anwendung eine geringere Bedeutung, so daß der Schwerpunkt von Rückstausuntersuchungen sich in Zukunft sehr wahrscheinlich auf die Hemmstoffe konzentrieren wird. Es ist daher besonders wichtig, dieses Untersuchungsverfahren zu vereinfachen, möglichst unter Erreichung größerer Sicherheiten als sie bisher gegeben sind.

Für eine Verkürzung des Verfahrens bietet sich als Testkeim *B. stearothermophilus* var. *calidolactis*, kurz *B. calidolactis* genannt an. Dieser Keim kann bei einer Bebrütung zwischen 64 und 66 Grad Celsius schon nach drei bis vier Stunden einwandfreie

Nachweise über das Vorliegen von Hemmstoffen liefern. Nachteilig ist jedoch, daß der Keim eine sehr große Empfindlichkeit auch gegenüber verschiedenen anderen Stoffen besitzt, die im Tierkörper, besonders aber im Harn vorkommen. Auch bei *B. subtilis* hat sich immer wieder gezeigt, daß unspezifische, d.h. nicht therapeutischen oder nutritiven Maßnahmen entstammende Substanzen zu Hemmungen führen. Der Gesetzgeber hat hier eine etwas größere Sicherheit in der Beurteilung dadurch erreicht, daß er Proben erst ab einem 2 mm großen Hemmhof als positiv anerkennt. Auch die eigenen Untersuchungen haben deutlich gezeigt, daß es sowohl mit *B. calidolactis* als in geringerem Maße auch mit *B. subtilis* immer wieder zu unspezifischen Hemmungen kommt. Um diese unspezifischen Hemmungen auszuschalten, die zum Teil auf das Vorliegen von körpereigenen Hemmstoffen großmolekularer Natur zurückzuführen sind, haben TERPLAN und Mitarbeiter (1973) empfohlen in den mikrobiologischen Hemmstofftest mit *B. calidolactis* eine Dialysemembran einzuschalten. Durch diese Membran würden großmolekulare Stoffe, wie Eiweißkörper mit antimikrobieller Wirkung zurückgehalten werden. Aus der Erkenntnis heraus, daß gerade im Harn Transferrine in größerer Menge vorkommen können und daß möglicherweise auch andere Komplexbildner Stoffe mit Eisen Verbindungen eingehen und das Eisen damit dem Nährangebot an die Bakterien entziehen, haben wir zusätzlich einige Untersuchungen durchgeführt in denen dem Harn zur Absättigung der Komplexbildner bzw. des Transferrins Eisen-II-Ionen so zugesetzt wurden, daß im Harn eine Konzentration von 1 Millimol entstand. Auf Untersuchungen bei Milch, bei denen das Lactotransferrin auf dieselbe Weise ausgeschaltet wurde, haben ORAM und REITER (1967) sowie ASTHON und BUSTA (1968) hingewiesen. Das Transferrine im Harn vorkommen, ist aus Untersuchungen bei Menschen bekannt. So haben MASSON, HILLEMANN und DIVE (1966) über entsprechende Untersuchungen berichtet,

wobei sie Konzentrationen bis zu einem Mikrogramm pro ml Urin ermitteln konnten.

Nachdem in Vorversuchen geprüft worden war, daß Antibiotika die Dialysemembran ohne wesentlichen Wirkungsverlust penetrieren - es zeigten sich höchstens Verminderungen der Hemmhöfe von 1 mm - konnten diese Versuche auch mit den Harnen zum Teil auch unter vergleichender Berücksichtigung der Untersuchungen an Organen durchgeführt werden.

Zunächst zeigte ein Vergleich der Schweineharnproben mit denen von Kälbern, daß die Schweine seltener positive Harnbefunde aufweisen. So waren von 160 Schweineharnproben mit *B. calidolactis* 20 (12,5 %) und mit *B. subtilis* 18 (11 %) hemmstoffhaltig, während von 61 Kälberharnen 51 (82 %) mit *B. calidolactis* und mit *B. subtilis* 50 (81,9 %) positive Hemmstoffnachweise ergaben. Durch Einschaltung einer Membran konnte mit *B. calidolactis* als Testkeim der Anteil der positiven Schweineharnen von 20 auf 6 reduziert werden (3,7 %), während bei den Kälbern immer noch 46 (75,4 %) der Harnproben hemmstoffpositiv blieben. Dieses deutet einestails darauf hin, daß in den Schweineharnen seltener körpereigene Hemmstoffe auftreten, anderenteils kann es auch damit erklärt werden, daß bei Kälbern in sehr viel größerem Umfang und in höherer Dosierung Antibiotika nutritiv eingesetzt werden, die mit den Harnproben noch erfaßt werden können. Die größere Empfindlichkeit der Hemmstofferkennung mittels Harnuntersuchung gegenüber des Nachweises über die Organe hatten schon VAN SCHOTHORST und Mitarbeiter (1970) deutlich herausgestellt. Bei der Untersuchung der Nieren ergab sich ein etwas verändertes Bild. Von 160 Schweinenieren waren mit *B. subtilis* nur 11 (6,8 %), mit *B. calidolactis* dagegen 45 (28,1 %) und von 61 Kälbernieren mit *B. subtilis* 42 (68,9 %) und mit *B. calidolactis* 52 (85,2 %) hemmstoffpositiv. Durch die Membran sank der Anteil bei *B. calidolactis* bei Schweinenieren auf 5 (3,1 %) und bei Kälbernieren auf 28 (45,9 %).

Damit war die Zahl der hemmstoffpositiven Nieren erheblich geringer als mit *B. subtilis*, was zumindest zum Teil darauf hindeutet, daß mit *B. subtilis* unspezifische Hemmungen erhalten worden waren.

Nach den Untersuchungen an undefiniertem Material wurden später auch Untersuchungen bei Tieren durchgeführt, deren Vorbehandlung bekannt war. Hierbei stellte sich heraus, daß auch Tiere, die als unbehandelt bezeichnet worden waren, Hemmstoffe mit dem Harn ausschieden. Zwar war die Hemmreaktion bei den Proben dieser behandelten Tiere eindeutig größer und ließ sich auch durch die Membran nicht oder nur unwesentlich verändern, während bei nicht behandelten Tieren vorhandene Hemmstoffe sich größtenteils aber doch nicht mit absoluter Sicherheit durch die Membran ausschalten ließen. Soweit man aufgrund der geringen Zahl der Kontrollen urteilen kann, konnte bei Schweinen die Membran die unspezifisch vorhandenen Hemmstoffe immer eliminieren, während das bei Kälbern nicht immer der Fall war. Sofern den Harnproben dann allerdings Eisen-II-Ionen zugesetzt wurden, konnten diese restlichen diffusiblen Hemmstoffe ausgeschaltet werden.

Bei der Untersuchung von Harnproben von Tieren, denen verschiedene Medikamente verabreicht worden waren, zeigte sich, daß im allgemeinen bei kombinierter Anwendung von Dialysmembran und Eisen-II-Ionen die Hemmhöfe um meist nicht mehr als 1,5 mm verringert wurden.

Sofern größere Reduktionen der Hemmhöfe zu beobachten waren, handelte es sich um Medikamente bei denen kein spezifischer Anteil an Hemmstoffen dafür verantwortlich gemacht werden konnte. Besonders auffällig war, daß nach der Applikation von Rotlauf-Adsorbatvakzine an Schweine - allerdings in der dreifachen Konzentration - im Harn diffusible Hemmstoffe festgestellt werden konnten. Selbst durch Zusatz von Eisen-II-Ionen konnten diese Hemmstoffe nicht völlig eliminiert werden, wenn

auch eine Reduktion der Hemmhofgrößen um durchwegs etwa 3 mm beobachtet werden konnte. Da die Rotlauf-Adsorbatvakzine nur geringe Mengen Formol und Phenol enthält, können die mit dem Harn ausgeschiedenen Hemmstoffe unseres Erachtens nur auf eine Provokation unspezifischer Hemmstoffe von geringerer als der Porengröße der Dialysemembran (50 Angström) zurückgeführt werden. Es konnte nicht Aufgabe dieser Arbeit sein, die Natur dieser Hemmstoffe weiter zu prüfen.

Auch bei anderen nicht hemmstoffhaltigen Medikamenten waren gelegentlich Hemmungen zu beobachten, die wie in einem Fall (Voren = Dexamethason-21 Isonicotinat) sowohl durch Membran als auch durch Eisen nicht ausgeschaltet werden konnten.

Da Tetracycline als Komplexbildner bekannt sind, bestand auch die Gefahr, daß durch Zufügung von Eisen-Ionen die Wirksamkeit und damit die Erfassbarkeit dieser Antibiotikagruppe beeinträchtigt würde. Die Ergebnisse zeigen, daß alle Tiere denen OTC oder CTC verabreicht worden war auch mit der kombinierten Membran-Eisen-Methode noch einwandfrei erfaßt werden konnten. Allerdings war im Gegensatz z.B. zu Penicillin oder dem Kombinationspräparat Penicillin-Streptomycin, wenn auch nicht absolut, so doch relativ eine stärkere Reduktion der Hemmzone zu erkennen. So bewegten sich die Hemmzonen bei Penicillin oder Penicillin-Streptomycin im Bereich von 10 bis 12 mm und wurden durch die Membran-Eisen-Methode höchstens um 2 mm reduziert, während die tetracyclinbedingten Hemmzonen sich im Bereich von 4 bis 6 mm bewegten und ebenfalls um 2 bis 2,5 mm nach Anwendung dieser Methode kleiner wurden.

Aus den vorliegenden Untersuchungen läßt sich folgende Empfehlung ableiten.

Die Untersuchung auf Hemmstoffrückstände bei Schlachttieren, die stichprobenweise zu dieser Untersuchung herangezogen werden, sollte auf das lebende Tier vorverlegt werden. Als Untersuchungsmaterial ist der Harn (ein besonders empfindlicher Indikator) sehr gut geeignet.

Um das Verfahren gegenüber den bisher gesetzlich festgelegten weiter abzukürzen, wird empfohlen als Testmikroorganismus *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* einzusetzen. Die Empfindlichkeit dieses Testkeimes gegenüber unspezifischen Hemmstoffen, die allerdings wenn auch nicht in dem gleichen Maße bei *B. subtilis* wirksam werden, kann durch Einschalten einer Dialysemembran und zusätzlich durch Hinzufügung von Eisen-II-Ionen zur Harnprobe weitgehend ausgeschaltet werden..

Die Schwierigkeiten, die sich bei der Entnahme von Harnproben ergeben, sind mehr technischer Natur und in Anbetracht der Verluste, die sich bei den gültigen Verfahren ergeben können durchaus vertretbar. Gleiches gilt für die Notwendigkeit beim Einsatz von *B. calidolactis* an den Untersuchungsstellen einen zusätzlichen Bebrütungsschrank für Bebrütungen bei 64 bis 66 Grad einzuführen. Durch diese Methode würden die Verluste, die sich durch längere Untersuchungsdauer ergeben, insbesondere aber die durch die Maßregelung entstandenen, vermieden werden können. Tiere mit Hemmstoff im Harn müßten von der Schlachtung zurückgestellt und einer eventuell erneuten Untersuchung zugeleitet werden.

Auch die zur Bakteriologischen Untersuchung eingesandten Organproben könnten mittels *B. calidolactis* unter Einschaltung der Membran untersucht werden.

5. Zusammenfassung

1. Von 160 Schweinen und 61 Kälbern, deren Vorgeschichte unbekannt war, wurden Harn-, Nieren- und Muskelproben vergleichend mit *B. subtilis* und *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* auf Hemmstoffe untersucht. Bei Harnproben waren die Unterschiede zwischen *B. calidolactis* und *B. subtilis* sowohl bei Schweinen als auch bei Kälbern gering. Bei den Nieren waren erheblich mehr hemmstoffpositive Proben mit *B. calidolactis* und zwar vor allem bei Schweinen zu ermitteln.
2. Durch Zuhilfenahme einer semipermeablen Membran verringerte sich die Zahl der positiven Ergebnisse mit *B. calidolactis* bei Schweinenierenproben von 45 (28,1 %) auf 5 (3,1 %), bei Schweineharnproben von 20 (12,5 %) auf 6 (3,7 %), bei Schweinemuskelproben von 7 (4,3 %) auf 2 (1,2 %), bei Kälbernierenproben von 52 (85,2 %) auf 28 (45,9 %), bei Kälberharnproben von 84 (83,2 %) auf 70 (69,3 %) und bei Kälbermuskelproben von 14 (22,9 %) auf 7 (11,4 %). Die entsprechenden Prozentsätze mit *B. subtilis* betrugen bei Schweinenieren 6,8 %, bei Schweineharnen 11 %, bei Schweinemuskeln 1,2 %, bei Kälbernieren 68,9 %, bei Kälberharnen 81,9 % und bei Kälbermuskeln 9,8 %.
3. Sowohl bei Kälbern, als auch bei Schweinen zeigte sich, daß bei Anwesenheit von diffusiblen Hemmstoffen in der Niere diese auch im Harn vorhanden waren. Allerdings traten im Harn diffusive Hemmstoffe auf, ohne daß die Niere positiv war.
4. Bei der Untersuchung von Tieren mit bekannter Vorgeschichte, denen zu unterschiedlichem Zeitpunkt vor der Schlachtung Chemotherapeutika verabreicht worden waren, erwies sich *B. calidolactis* als sehr empfindlicher Testkeim. Von 43 behandelten Kälbern war nur bei einem Kalb ein Kombinationspräparat von Trimethoprim und Sulfadoxin nicht nachweisbar. Bei den untersuchten Schweinen waren die verwendeten Antibiotika in allen Fällen nachzuweisen.

In Versuchen unter Beteiligung von 14 Instituten, bei denen *B. subtilis* als Testkeim verwendet wurde, konnten die Antibiotika häufig gar nicht oder nur in wenigen Proben (Niere) nachgewiesen werden.

5. Durch den Zusatz von Fe-II-Ionen zum Harn konnten die durch diffusible Hemmstoffe unbekannter Art bedingten positiven Ergebnisse weiter eingeschränkt werden. Lediglich in einem Fall blieb eine Kontrollprobe noch fraglich. Diese Methode ist nur mit einer geringen Hemmhofverkleinerung bei spezifischen Hemmstoffen verbunden.
Unspezifische Hemmstoffnachweise, wie sie nach Applikation von Rotlauf-Adsorbatvakzine z.T. auch von einem Corticosteroidpräparat z.T. auch bei *B. subtilis* auftraten, konnten zwar weitgehend verringert, jedoch nicht ausgeschaltet werden.

Summary

1. To trace the presence of inhibitory substances we have examined urine, renal, and muscular samples of 160 pigs and 61 calves, whose history was unknown, in order to compare our findings with *B. subtilis* and *B. stearothermophilus* var. *calidolactis*. As our examination of urine specimens has disclosed, the difference between *B. calidolactis* and *B. subtilis* was of only minor degree, in both pigs and calves.
By experimenting with *B. calidolactis*, especially with the kidneys of pigs, considerably more positive inhibitory substance was found in the renal specimens.
2. With the aid of a semi-permeable membrane the number of positive results received by using *B. calidolactis*, was diminished with pig kidneys from 45 (28,1 %) to 5 (3,1 %), with pigs urine specimen from 20 (12,5 %) to 6 (3,7 %), with pigs muscular specimen from 7 (4,3 %) to 2 (1,2 %), with calves urine specimen from 84 (83,2 %) to 70 (69,3 %), and with calves muscular specimen from 14 (22,9 %) to 7 (11,4 %). The corresponding percentage, when tested with *B. subtilis*, resulted in 6,8 % with pigs kidneys, 11 % with pigs urine specimen, 1,2 % with pigs muscular specimen, 68,9 % with calves kidneys, 81,9 % with calves urine specimen, and 9,1 % with calves muscular specimen.
3. The presence of diffusive inhibitory substance was evident not only in the kidneys but also in the urine of both, calves and pigs. However, in a few cases, diffusive inhibitory substance was found in urine samples while the kidney was negative.
4. *B. calidolactis* was proven to be a most sensitive testing microorganism in animals with a known history which were fed chemotherapeutica prior to and at different times before they were killed. Out of 43 treated calves there was only one specimen containing a combination of trimethoprime and sulfadoxine that could not be clearly determined.

During a test series with *B. subtilis* used as the test micro-organism and in which 14 different institutions took part, the presence of antibiotics could in most cases either not at all, or in only few samples (kidneys) be determined.

5. By adding Fe^{++} to the urine samples, the positive results derived from the unknown diffusive substances could be further reduced. Only in one single case the control test revealed an uncertain result. This method results in only a small reduction of the inhibiting environment for a specific inhibiting substance. Any nonspecific presence of inhibiting substance, as was found with the application of red murrain-adsorbent vaccine, and also to a certain extent with corticosteroid preparation and *B. subtilis*, could be reduced considerably, but not eliminated.

S C H R I F T T U M V E R Z E I C H N I S

ASHTON, D.H. und F. F. BUSTA (1968):

Milk components inhibitory to *Bacillus stearothermophilus*
J. Dairy Sci. 51, 842 - 847.

BARTELS, H., H. ANGERSBACH und H.J. KLARE (1972):

Nachweis von Hemmstoffen bei Tieren aus Normalschlachtungen.
Fleischwirtschaft 52, 479 - 482.

BARTELS, K. H. (1970):

Hemmstoffe auch bei Normalschlachtungen?

Schlacht- u. Viehhofz. 70, 309 - 312.

BECK, G. und Th. MANTEL (1972):

Der biologische Hemmstofftest, ein Weg zur Klärung des Rückstandsproblems in Fleisch.

Fleischwirtschaft, 52, 1605 - 1609.

BENFLER, W. und K. ZETTL (1973):

Die Anwendbarkeit des "Allgemeinen Hemmstoff-Testes" (AH-Test) bei der Untersuchung auf mikrobiologisch aktive Rückstände in Fleisch und Organen.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 80, 35 - 38, 62 - 63.

BETHCKE, H. H. und J. PÜSCHNER (1972):

Bericht über Antibiotika-Testbefunde bei 33.000 Schlachttieren.
Schlacht- u. Viehhofz. 72, 212 - 214.

BONFERT, W. und K. BERRANG (1969):

Hemmstoffnachweis im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 61 - 63.

BRÜGGEMANN, J. und M. MERKENSCHLAGER (1958):

Verbleib von Antibiotika im Tierkörper nach Fütterung und Schlachtung.

Arch. Lebensmittelhyg. 2, 197 - 199.

BRUNSCHWILLER, F. (1961):

Die Ausscheidungsdauer verschiedener Antibiotika bei intramammärer Behandlung des Rindes.

Vet. med. Diss., Bern.

BUCHMANN, - (1972):

Zur Standardisierung eines Hemmstofftestes für Milch. Korreferat anlässlich 14. Arbeitstagung des Arbeitskreises Lebensmittel-hygienischer Tierärztlicher Sachverständiger, Berlin.

CLARENBURG, A. und E.H. KAMPELMACHER (1957):

Die Bedeutung von Antibiotika für die bakteriologische Fleisch-beschau mit besonderer Berücksichtigung der Milzbrand- und Salmonella-Diagnostik.

Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 70, 203 - 205.

DEDEK, J., E. EYLANDT und I. VOGEL (1971):

Nachweis von Hemmstoffen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Mh. Vet.-Med. 26, 604 - 606.

DOLD, H. (1934):

zit. nach Pschyrembel, W.

klinisches Wörterbuch

Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 1964.

DRAHEIM, R. (1971):

Nachweis von Antibiotikarückständen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Mh. Vet.-Med. 26, 511 - 514.

EBLECH, A. und H.S.H. SEIFERT (1972):

Versuche zum intra vitam Nachweis von Hemmstoffen bei Schlachttieren.

Arch. Lebensmittelhyg. 23, 216 - 221.

FLECK, J.D. (1973):

Untersuchungen zum Hemmstoffnachweis in Fleischproben mit *Bac. stearothermophilus* var. *calidolactis* C 953 und *Bac. subtilis* BGA.

Vet. med. Diss., Gießen.

FLEMING, A. (1922):

A remarkable bacteriolytic element found in tissues and excretions.

Proc. Roy. soc. (London) 23, 306 - 310.

FORSCHNER, E. (1962):

Hemmstoffe in Organen von Schlachttieren.

Arch. Lebensmittelhyg. 13, 242 - 246.

FRANSEN, J.G. (1966):

Resultaten van een onderzoek naar het voorkomen van antibiotica in de urine van een aantal zieke en in nood gedode slachtdieren.

Tijdschr. Diergeneesk. 91, 795 - 799

DERSELBE (1968):

Resultaten van een onderzoek naar het voorkomen van antibiotica in de urine van een aantal normale ter slachting aangeboden vette kalveren.

Tijdschr. Diergeneesk. 93, 838 - 840

FREERKSEN und BÖNICKE (1951):

Über antibakterielle Prinzipien in höheren Pflanzen I.

Zschr. Hyg. 132, 417 - 449.

GAL, J.E. (1968):

Über die antibakterielle Wirksamkeit von Gewürzpaprika.

Aktivitätsprüfung von Capsicidin und Capsaicin.

Z.Lebensmitteluntersuch. und forsch. 138, 86 - 92.

GAL, J.E. und Ö. VAJDA (1968):

Die Rolle der Phytonzide in der Haltbarmachung von Lebensmitteln.

Nahrung 12, 623 - 630

GEMMER, H. und H. SEEGER (1970):

Der Nachweis von Hemmstoffen in der bakteriologischen

Fleischuntersuchung und seine Bedeutung für den Verbraucher

Dtsch. tierärztl. Wschr. 77, 577 - 600.

GEORGAKIS, S. (1962):

Die Bakterizide der Milch

Vet. med. Diss., FU Berlin.

GERMER, W.P. (1954):

Ein neues Präparat für antibiotische Therapie auf pflanzlicher Grundlage

Dtsch. med. Wschr. 79, 1445 - 1451.

GISSKE, W., S. WENZEL, J. PICHNARCIK, J. SCHAPER und E. ENNEN (1970):

Allgemeiner Hemmstoffnachweis bei normal geschlachteten, tauglich beurteilten Kälbern, Schweinen und Rindern.

Arch. Lebensmittelhyg. 21, 25 - 30.

GOKSØYR, J. (1964):

Chemical and fungicidal reactions of 3,5-Dimethyltetrahydro-1,3,5,-thiadiazine-2-thione (3,5-D). A comparison with Sodium N-Methyl Dithiocarbamate and Methylisothiocyanate.

Acta chem. Scand. 18, 1341 - 1352.

HALBEISEN, Th. (1954):

Untersuchungen des antibiotischen Wirkstoffes einer höheren Pflanze (*Tropaeolum majus* - Kapuzinerkresse)

Medizinische 36, 1212 - 1294.

HEILMANN, R. (1971):

Ringuntersuchung auf Hemmstoffe (Antibiotika) bei normal-geschlachteten Rindern, Schweinen und Kälbern an 11 Schlachthöfen in der Bundesrepublik Deutschland.

Vet. med. Diss., Hannover.

HENTSCHE, - (1972):

Zur Standardisierung eines Hemmstofftestes für Milch.

Korreferat anlässlich 14. Arbeitstagung des Arbeitskreises Lebensmittelhygienischer Tierärztlicher Sachverständiger, Berlin.

HUBER, W.G., M.B. CARLSON and M.H. LEPPER (1969):

Penicillin and antimicrobial residues in domestic animals at slaughter.

J. Amer. vet. med. Ass. 154, 1590 - 1595.

ILLES, M. und M. IVANYI (1969):

Antibiotic Content Of Eggs laid by Hens Fed Erra Continously.

Acta Vet. Acad. Sc. Hung. 19, 47 - 51.

JONES, F.S. und H.S. SIMMS (1930):

The bacterial growth inhibitor (lactenin) of milk.

J. Exptl. Med. 51, 327 - 339.

KALICH, J. und M. MERKENSCHLAGER (1958):

Zur Frage des Salmonella-Nachweises in Organen nach Antibiotika-Therapie bzw. - Beifütterung.

Tierärztl. Umschau 13, 324 - 328.

KAMMERER, H. (1914):

Das Verhalten von Bakterien gegen einige Blutfarbstoffderivate.

Verhandl. dsch.Kongr. Med. 31, 704 - 715

KAMPELMACHER, E. H., P. A. M. GUINEE und L.M.VAN NOORLE JANSEN (1962):

Een eenvoudige onderzoekmethode ter vaststelling van antibiotica bij slachtdieren, die tijdens het leven therapeutisch met antibiotica werden behandeld.

Tijdschr. Diergeneesk. 87, 16 - 29.

KATCHALSKJ, E., L. BICHOVSKI - SLUMNITZKI und B.E. VOLCANI (1952):

Action of some water-soluble polyamino - acids on bacteria. Nature 196, 1095 - 1096

KIND, H. (1966):

Hemmstoffe unter besonderer Berücksichtigung der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Mh. Vet.-Med. 21, 903 - 910.

KJAER, A. (1960):

Mustard oils and their parents glucosides.

Fortschr. chem. org. Naturstoffe 18, 122 - 176.

DERSELBE (1965):

The distribution of sulphor compounds

Academic Press 1965, 187 - 193.

KLEIBEL, A. (1972):

Praktische Erfahrungen und Ergebnisse mit Hemmstoffnachweisen im Schlachthof St. Pölten.

Wien. tierärztl. Mschr. 59, 525 - 531.

KLIRA, H. (1966):

Zur Frage des Hemmstoffnachweises anlässlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Fleischwirtschaft 46, 1347 - 1349.

KOTTER, L., G. TERPLAN und H. SCHLIZ (1959):

Biologischer Nachweis von Hemmstoffen in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Arch. Lebensmittelhyg. 10, 145 - 152.

KOTTER, L. (1960):

Einschaltung eines biologischen Hemmstofftestes bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Fleischwirtschaft 12, 138 - 139.

KREUZER, W. und R. AIGNER (1971):

Lebensmittelhygienische Probleme, insbesondere nach unkontrollierter Applikation von Wirkstoffen und Therapeutika an Schlachttiere.

Fleischwirtschaft 51, 43 - 49.

KUDRAT, W. (1968):

Methoden zur Bestimmung von Antibiotica-Rückständen in tierischen Produkten.

Z. Anal. Chemie, 243, 624 - 630.

DERSELBE (1973):

Vergleichende Versuche und Gedanken zur Durchführung von Hemmstofftesten.

Fleischwirtschaft 53, 1121 - 1125.

LESTER, G. und O. HECHTER (1958):

Effect of desoxycorticosterone on the growth of micro-organisms.

J. Bact. 76, 365 - 367.

LEVETZOW, R. (1971)

Untersuchungen auf Hemmstoffe im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Bundesgesundheitsblatt 14, 211 - 213.

LORENZEN, P. (1967):

Anwendung und Auswertung des Antibiotikatestes in der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 30 - 32.

MANTEL, Th. (1971):

Ergebnisse von Untersuchungen nach einer einheitlichen Untersuchungsmethode zum Nachweis von Hemmstoffen in Nieren bei Schlachttieren.

Vortrag, gehalten auf der 14. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft in Freiburg.

MASSON, P.L., J.F. HEREMANS und CH. DIVE (1966):

An iron-binding protein common to many external secretions.

Clin. Chim. Acta, 14, 735 - 739.

MEYER, B., W. THIEL und W. WEIS (1969):

Bedeutung und Nachweis von Hemmstoffen im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Fleischwirtschaft 49, 203 - 209.

MEYN, A., J. KALICH und M. MERKLSCHLAGER (1960):

Der Einfluß der Antibiotika-Beifütterung und der Antibiotika-Therapie auf das Ergebnis der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 73, 81 - 87.

NASSAL, J. und L. NIEPER (1971):

Hemmstoffnachweis bei der Bakteriologischen Fleischuntersuchung im Raume Nordbaden.

Tierärztl. Umschau 26, 580 - 582.

NOUWS, J. F. M. (1973):

Antibioticaresiduen bij geslachte mestkalveren.

Tijdschr. Diergeneesk. 98, 229 - 240.

OSBORN, E. M. (1943):

On occurrence of antibacterial substances in green plants.

Brit. J. exper. Path. 24, 227 - 231.

PEDERSEN, H. (1965)

The use of concentrated extracts from tissue in the determination of penicillin and tetracyclines in slaughtered poultry to which fodders containing antibiotics have been fed.

Yb. Roy Agric. College, Copenhagen, 33 - 60.

PIENING, H. (1962):

Vergleich biologischer Methoden zum Nachweis von Hemmstoffen in Schweinenieren.

Vet. med. Diss., München.

REICHNARCI, J., S. WENZEL und W. GISSKE (1969):

Beitrag zur Methodik des Hemmstoffnachweises in Organen und Muskulatur von Schlachttieren.

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 272 - 279.

PULVERER, G. (1968):

Benzylsenfö1 ein Breitbandantibiotikum aus der Kapuzinerkresse.

Dtsch. med. Wschr. 93, 1642 - 1648.

REITER, B. und J.D. ORAM (1967):

Bacterial inhibitors in milk and other biological fluids.

Nature 216, 328 - 330.

ROBINSON, T. (1964):

The organic constituents of higher plants, their chemistry and interrelationships.

Burgess. Publishing Comp., USA 281 - 289.

ROTH, L. (1971):

Vergleich der quantitativen und qualitativen Aussagefähigkeit des allgemeinen mikrobiologischen Hemmstofftests mit dem mikrobiologisch-chemischen Antibiotikanachweisverfahren bei normalgeschlachteten Schweinen, Kälbern und Rindern.

Vet. med. Diss., Hannover.

SAKARJAN, G.A. (1967):

Einige Gesetzmäßigkeiten in der Verteilung von Antibiotika im tierischen Organismus.

Veterinarija 44, H. 7, 78.

SANDERS, D. W., P. WEATHERWAX und L.S. MC CLUNG (1945):

Antibacterial substances from plants collected in Indiana.

J. Bact. 49, 611 - 615.

SAWATZKI, K. (1971):

Über die Häufigkeit des Hemmstoffnachweises anlässlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung in Rheinland-Pfalz.

Tierärztl. Umschau 26, 603 - 608.

SCHAAL, E. (1961):

Erfahrungen über den mikrobiologischen Hemmstoffnachweis bei Geflügelfleisch.

Fleischwirtschaft 13, 561 - 563.

SCHAAL, M. (1972):

Untersuchungen über die Empfindlichkeit von Testkeimen im allgemeinen Hemmstofftest (A.H.-Test) und mikrobiologisch-chemischen Test (M.C.-Test) im Hinblick auf die qualitative und quantitative Nachweismöglichkeit von Hemmstoffen (Antibiotika) in Fleisch. Vet. med. Diss., Hannover.

SCHAPER, J. (1970):

Hemmstoffnachweis (Antibiotika) bei normal- und krankgeschlachteten Rindern, Kälbern und Schweinen.

Vet. med. Diss., Hannover.

SCHNEIBNER, G. (1969):

Vorkommen und Abbau von Antibiotika im Fleisch.

Mh. Vet.-Med. 24, 739 - 742.

SCHMID, A. (1969):

Zur Pharmakologie und Toxikologie der Antibiotika.

Der prakt. Tierarzt 50, 503 - 504.

SCHMIDT, M., W. WOLTERSDORF, H. LINKE und L. LEISTNER (1972):

Antibiotika-Rückstände im Kalbfleisch.

Untersuchungen aus dem Institut für Bakteriologie und Histologie der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach

1. Zwischenbericht, Sept. 1972.

SKARLIS, R.C. and D.W. WATSON (1957):

Antimicrobial factors of normal tissues and fluids.

Bact. Rev., Baltimore 21, 273 - 294.

STEGGER, H., B. PIATKOWSKI und F. PÜSCHEL (1965):

Über die Wirkung von Thiocyanat auf den Stoffwechsel der
Milchkühe.

Arch. Tierernährung 15, 399 - 405.

STICKL, H. (1954):

Über eine antibiotisch wirksame Pflanzensubstanz.

Dt. med. Wschr. 79, 1722 - 1725.

DERSELBE (1955 a):

Verteilung eines ätherischen Öles aus der Kapuzinerkresse in
tierischen Organen.

Ärztl. Forschg. 9, 553 - 560.

TAKACS, J. and S. KOVACS (1969):

Demonstration of antibiotic residues in the most of
slougherec animals.

Acta vet. Acad. Sc. Hung. 19, 11 - 19.

TERPLAN, G. und K.-J. ZAADHOF (1967):

Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmstoffen in der
Milch- eine kurze Übersicht

Milchwiss. 22, 761 - 771.

VAN HAYNINGEN (1951):

The antibacterial activity of haematin.

J. gen. Microbiol. 5, 758 - 765.

VAN SCHOTHORST, M. (1965):

Onderzoek naar het voorkomen van antibiotica-residuen in normale
slachtdieren.

Tijdschr. Diergeneesk. 90, 579 - 586

DERSELBE (1969):

Residuen van antibiotica in slachtdieren.

Vet. med. Diss., Utrecht.

DERSELBE (1970):

Nachweis und Identifizierung einiger Antibiotika
bei Schlachttieren.

Fleischwirtschaft 56, 1085 - 1087.

VIRTANEN, A.J. (1958):

Antimikrobiell wirksame Substanzen in Kulturpflanzen.

Angew. Chemie 70, 544 - 552.

DERSELBE (1969):

Antimikrobielle und antithyreoide Stoffe in einigen Nahrungs-
pflanzen.

Ref. für die Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung e.V.,
6222 Geisenheim/Rhg., Rüdesheimerstr. 4.

WAGNER, H., L. HÖRHAMMER und NUFER (1965):

Zur Dünnschichtchromatographie von Senfölen und Senfölglyco-
siden.

Arzneimittelforsch. 15, 453 - 457.

WALTER, A.M. und L. HEILMEYER (1969):

Antibiotika - Fibel

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

WATSON, W. und W.L. BLOOM (1952):

Antibacterial activity of natural and synthetic polypeptide
Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 81, 29 - 33.

WELZ, W. (1967):

Zur Frage einer möglichen Beeinflussung des Hemmstoff-
nachweises im Rahmen der bakteriologischen Fleisch-
untersuchung durch in Pflanzen vorkommende antibak-
terielle Wirkstoffe.

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 230 - 231.

WENZEL, S. (1971):

Allgemeiner Hemmstoffnachweis bei krankgeschlachteten Rindern und Schweinen und ein Vergleich mit den Hemmstoffnachweisen bei normal geschlachteten Tieren.

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 200 - 205.

WINTER, A.G. (1952 a):

Die Heilpflanze des Matthiolus (1611) gegen Infektionen der Harnwege und Verunreinigung der Wunden bzw. zur Förderung der Wundheilung im Lichte der Antibiotikaforschung.

Madaus Jahresbericht **VI**, 7 - 42.

DERSELBE (1952 b):

Untersuchungen über die flüchtigen Antibiotika aus der Kapuziner- und Gartenkresse und ihr Verhalten im menschlichen Körper bei Aufnahme von Kapuziner - bzw. Gartenkressesalat per os.

Madaus Jahresbericht **VI**, 43 - 93.

DERSELBE (1953):

Antibiotische Therapie auf diätetischer Grundlage.

I. Der Meerrettich (*Chochlearia armoracia*) als Träger antibiotischer, in vivo wirksamer Substanzen.

Madaus Jahresbericht **VII**, 21 - 42.

DERSELBE (1959):

Infektion und Ernährung im Lichte der Antibiotikaforschung, dargestellt am Beispiel der Senföle.

Naturwiss. Rdsch. 12, 131 - 137.

WUILLERET, A. (1968):

Contribution à la recherche de substances antibiotiques dans les viandes.

Schweiz. Arch. Tierh. 110, 523 - 531.

ZEITRÄG, K. (1970):

Zum biologischen Nachweis aus Futterpflanzen stammender Hemmstoffe in der Milch.

Vet. med. Diss., Hannover.

ZSOLNAI, T. (1966):

Die antimikrobielle Wirkung von Thiocyanaten und
Isothiocyanaten. 1. Mitteilung.

Arzneimittelforschung 16, 870 - 876.

L e b e n s l a u f

Am 25. Mai 1943 wurde ich als Sohn des Ehepaares Wilhelm Barthel und Margarethe Barthel, geborene Römer, in Augsburg geboren.

Im Anschluß an eine fünfjährige Volksschulzeit besuchte ich das Holbein-Gymnasium in Augsburg, an dem ich im Juni 1964 die Reifeprüfung ablegte. Nach meiner Entlassung aus der Bundeswehr begann ich im Sommersemester 1966 mit dem Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Im August 1971 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt. Bis zum Beginn meiner Doktorarbeit im April 1973 war ich in der tierärztlichen Praxis tätig.

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. G. TERPLAN für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gern gewährte Anleitung und Unterstützung bei der Ausführung meiner Arbeit danken.

Ebenso danke ich Frau Dr. ANGERSBACH und Herrn Dr. ZAADHOF für die Hilfe und Ratschläge zu meiner Arbeit.

Desgleichen gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Institutes für ihre stete Hilfsbereitschaft.

